

N^o D'ORDRE : 146.

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE
L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Yvette PARÈS

Première thèse. — ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DE LA MORPHO-
GENÈSE DU GAMÉTOPHYTE DE QUELQUES FILICINÉES.

Deuxième thèse. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 8 Juin 1957 devant la commission d'examen.

MM. P. MATHIAS, Doyen. *Président.*

L. EMBERGER..... }
G. DENIZOT..... } *Assesseurs.*

PARIS

MASSON ET C^{IE}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN (VI^e)

1958

N^o D'ORDRE : 146.

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Yvette PARÈS

Première thèse. — ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DE LA MORPHO-
GENÈSE DU GAMÉTOPHYTE DE QUELQUES FILICINÉES.

Deuxième thèse. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 8 Juin 1957 devant la commission d'examen.

MM. P. MATHIAS, Doyen. *Président.*

L. EMBERGER..... }
G. DENIZOT..... } *Assesseurs.*

PARIS

MASSON ET C^{IE}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN (VI^e)

1958



FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

DOYEN

M. P. MATHIAS..... Professeur de Zoologie et de
Biologie générale.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. M. JACQUES, J. PAVILLARD, J. CABANNES, M. CASTERAS, L. GAY et M. CARRIÈRE.

PROFESSEURS

MM. G. GOUCHET Mécanique rationnelle.
J. SOULA Mathématiques.
M. MOUSSERON..... Chimie.
L. EMBERGER Botanique.
C. BOURET Physique.
G. DENIZOT Géologie.
J. GRANIER Physique.
P. CHATELAIN..... Minéralogie.
J. TROCHAIN Botanique coloniale.
M^{lles} O. TUZET..... Zoologie.
G. CAUQUIL..... Chimie.

PROFESSEURS SANS CHAIRE

MM. P. VIÈLES Chimie.
J. DIVE Mathématiques.
M^le A. VERGNOUX..... Physique.
MM. J. MOTTE Botanique.
J. AVIAS Géologie.

MAITRES DE CONFÉRENCES

MM. R. JOUTY Physique.
J. RABINOVITCH Physique.
J. SALVINIEN Chimie.
J.-J. MOREAU Mathématiques.
M. SILBER Chimie.
J.-P. KAHANE Mathématiques.
E. KAHANE Chimie biologique.
R. JACQUIER..... Chimie.

SECRÉTAIRE HONORAIRE

M. J. DUBOIS.

SECRÉTAIRE

M. R. ROUQUAIROL.

A MES PARENTS

A MES MAITRES

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DE LA MORPHOGENÈSE DU GAMÉTOPHYTE DE QUELQUES FILICINÉES

Par Yvette PARÈS

SOMMAIRE

PREMIÈRE PARTIE. — Matériel et techniques	6
DEUXIÈME PARTIE. — Historique	9
TROISIÈME PARTIE. — Recherches personnelles	18

<i>Chapitre I.</i> — INFLUENCE DE QUELQUES FACTEURS PHYSIQUES ET CHIMIQUES SUR LE DÉVELOPPEMENT DES PROTHALLES	20
---	----

A. <i>Milieux simples</i>	20
---------------------------------	----

1° Action de l'eau (20) ; 2° Action de sels minéraux dépourvus d'azote (20) ;
3° Action des nitrates, nitrites et sels d'ammonium (21).

B. <i>Milieux complexes</i>	21
-----------------------------------	----

I. <i>Pteris longifolia</i>	21
-----------------------------------	----

1° Influence de la concentration du milieu de Knop et des oligo-éléments (21) :
Les conditions d'expériences (22), Germination (22), Développement du
prothalle (23), Conclusions (25) ; 2° Influence de la concentration du milieu
de Knop, des oligo-éléments et de la lumière continue (26) : Germination
(26), Développement du prothalle (27), Conclusions (31) ; 3° Action des
milieux renfermant, à la fois, des nitrates et un sel d'ammonium (32) ;
4° Action des milieux dont la source d'azote est représentée uniquement par
un sel d'ammonium (37) ; 5° Mode de formation du prothalle de *Pteris*
longifolia (39).

II. <i>Acrostichum aureum</i>	41
-------------------------------------	----

1° Influence de la concentration du milieu de Knop et des oligo-éléments (41) ;
2° Action des milieux renfermant, à la fois, des nitrates et un sel d'ammo-
nium (43) ; 3° Action des milieux dont la source d'azote est représentée
uniquement par un sel d'ammonium (43) ; 4° Mode de formation du pro-
thalle d'*Acrostichum aureum* (44) : Étapes de la morphogenèse (44), Consi-
dérations phylogénétiques (48).

III. <i>Dryopteris setigera</i>	49
---------------------------------------	----

1° Influence de la concentration du milieu de Knop et des oligo-éléments (49) ;
2° Influence des milieux renfermant, à la fois, des nitrates et un sel d'ammo-

nium (50) ; 3° Influence des milieux dont la source d'azote est représentée uniquement par un sel d'ammonium (51) ; 4° Conclusions (51).

<i>Chapitre II. — INFLUENCE DE QUELQUES FACTEURS BIOLOGIQUES SUR LE DÉVELOPPEMENT DES PROTHALLES</i>	52
A. <i>Généralités sur le rôle des micro-organismes</i>	52
B. <i>Travaux personnels</i>	55
1° Extrait de terre	55
2° Action des micro-organismes	56
I. — Action d'un champignon cellulolytique (57) : 1. <i>Dryopteris setigera</i> (57) ; 2. <i>Pteris longifolia</i> (58) ; 3. <i>Acrostichum aureum</i> (59) ; 4. <i>Dryopteris parasitica</i> (61) ; 5. Conclusions (62).	
II. — Action d' <i>Alternaria humicola</i> . (62) : 1. <i>Pteris longifolia</i> (62) ; 2. <i>Dryopteris setigera</i> (65) ; 3. <i>Acrostichum aureum</i> (66) ; 4. Conclusions (68).	
3° Influence des prothalles sur les champignons	68
4° Action de diverses bactéries	69
5° Mode d'action des micro-organismes	70
6° Action de la pénicilline	71
7° Conclusions	72
<i>Chapitre III. — LE STADE FILAMENTEUX ET LA PHYLOGENÈSE</i>	73
<i>Chapitre IV. — LA RÉGÉNÉRATION DES PROTHALLES</i>	76
I. — <i>Production d'excroissances sur des prothalles jeunes ou plus âgés, non traumatisés</i>	77
1° <i>Pteris longifolia</i> (77) ; 2° <i>Acrostichum aureum</i> (78) ; 3° <i>Dryopteris setigera</i> (78) ; 4° <i>Lygodium Smithianum</i> (78) ; 5° Conclusions (78) ; 6° Cas particulier (79).	
II. <i>Excroissances produites sur des fragments de prothalles</i>	80
1. Expériences d'ALBAUM	80
2. Expériences personnelles	83
1° <i>Pteris longifolia</i> (83) : a. Portions initiales du filament, comprenant la spore et les premières cellules qui lui font suite (83) ; b. Portions quelconques du filament (84) ; c. Extrémités de spatules jeunes ne montrant pas encore de début d'échancrure (85) ; d. Parties antérieures de jeunes spatules (85) ; e. Fragments de prothalles âgés, dépourvus de cellules marginales et découpés en dehors du coussinet (85) ; f. Fragments de coussinet (86) ; g. Régions de l'échancrure des prothalles âgés (87).	
2° <i>Dryopteris parasitica</i> (88) : a. Zone de l'échancrure (88) ; b. Fragments inférieurs (89).	
3° <i>Acrostichum aureum</i> (90) : Portions initiales du filament, comprenant la spore et les premières cellules qui lui font suite (90) ; Portions quelconques du filament (92) ; Fragments de prothalles âgés dépourvus de cellules marginales (92) ; Portions antérieures de jeunes spatules (93) ; Portions terminales de jeunes spatules (94) ; Protubérances comprenant l'ex-cellule terminale de la spatule (95).	
4° Interprétation des phénomènes de régénération	96
5° Rôle des hormones de croissance au cours du développement	98
6° Signification du stade filamenteux	100
7° Conclusions	102

CONCLUSIONS GÉNÉRALES	104
I. <i>Facteurs morphogénétiques</i>	105
Germination	105
Développement du prothalle	105
Facteurs physiques et chimiques (105) ; Facteurs biologiques (107).	
II. <i>Différences dans le comportement des espèces</i>	109
III. <i>Mode de formation du prothalle chez les Polypodiacées</i>	109
IV. <i>Régénération des prothalles</i>	110
BIBLIOGRAPHIE	112

INTRODUCTION

Les recherches dont nous exposons aujourd'hui les résultats constituent un essai de morphologie expérimentale. Nous avons tenté de déterminer, sur plusieurs espèces de Filicinées, à l'aide des méthodes de cultures aseptiques, les facteurs qui permettent le développement normal du gamétophyte.

Mais, avant de décrire nos observations, nous voulons exprimer notre reconnaissance envers tous ceux qui nous ont aidée, guidée et encouragée au cours de nos recherches.

Nous exprimons notre très vive gratitude à M. le professeur L. EMBERGER, directeur de l'Institut Botanique de Montpellier, correspondant de l'Institut, pour les enseignements et les conseils bienveillants que nous avons reçus de lui, au cours de nos études et travaux.

Notre dette de reconnaissance envers M. R. NOZERAN, maître de conférences, à la Faculté des Sciences, est très grande. Nous avons préparé, sous sa direction, un diplôme d'études supérieures, puis, tout au long de notre thèse, il nous a aidée et encouragée. Nous lui devons aussi d'avoir pu travailler sur des espèces africaines particulièrement intéressantes qu'il a eu la bonté de nous rapporter lors d'un séjour en Côte-d'Ivoire. Puisse ce modeste mémoire exprimer un peu toute la profonde et affectueuse reconnaissance que nous avons pour lui.

Nous remercions respectueusement M. le doyen MATHIAS, professeur de zoologie à la Faculté des Sciences, qui a bien voulu accepter de présider le jury de notre thèse, et M. DENIZOT, professeur de géologie, assesseur.

Nous exprimons toute notre reconnaissance à M. RIZET, maître de conférences à la Sorbonne, pour les conseils judicieux et les encouragements que nous avons reçus de lui, au long de notre travail.

Nos profonds remerciements vont aussi à M. CAMUS, maître de conférences à la Sorbonne, qui nous a donné, à maintes reprises, des renseignements très précieux pour nos recherches.

M^{me} HUREL-PY, maître de conférence à la Sorbonne, a bien voulu nous enseigner les techniques de cultures aseptiques qu'elle a mises au point et a contribué grandement à faciliter nos recherches. Nous la prions de bien vouloir trouver ici l'expression de notre très vive gratitude.

Nous exprimons notre vive gratitude à M. MOREAU, professeur à la Faculté des Sciences de Caen, ainsi qu'à M. DOGUET, assistant, à qui nous devons la détermination d'un Champignon imparfait : *Alternaria humicola* Oudemans.

Nous remercions très vivement M. CARRÈRE, professeur à la Faculté de

Médecine, qui a bien voulu mettre à notre disposition les appareils dont nous avons eu besoin au début de nos recherches.

Nos remerciements les plus vifs s'adressent également à M. Roux, professeur à la Faculté de Médecine, dont la compétence et la bonté nous ont été très précieuses.

Nous exprimons notre gratitude à M. le professeur HARANT et à M. le doyen DOUIN, qui ont mis à notre disposition les Fougères des jardins botaniques de Montpellier et de Lyon, qu'ils dirigent.

M. DELANGE, chef de cultures au Jardin des Plantes de Montpellier, a souvent facilité notre travail. Nous le remercions bien vivement.

Notre gratitude va, également, à M^{me} ROUSSINE, chargée de recherches du C. N. R. S., qui nous a aidée dans l'analyse des mémoires étrangers.

Nous exprimons notre amicale reconnaissance à tous nos camarades du laboratoire de morphologie de l'Institut Botanique : MM. Bernard DURAND et Jacques ROUX, qui ont eu l'obligeance de participer à la correction des épreuves dactylographiées. Nous adressons plus particulièrement à M^{lle} Raymonde RIVIÈRES nos remerciements affectueux pour l'aide très précieuse qu'elle nous a apportée en maintes circonstances.

Nous remercions très vivement M. BERTRAND, technicien au C. N. R. S., qui a bien voulu assurer la reproduction photographique de nos schémas.

M^{lle} GUÉRY a assuré avec beaucoup de soins et de compétence la frappe de ce mémoire. Nous lui renouvelons ici nos chaleureux remerciements.

PREMIÈRE PARTIE

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

Nous avons utilisé principalement, aux cours de nos expériences, les trois espèces suivantes, qui appartiennent à la famille des Polypodiacées :

- *Pteria longifolia* L. ;
- *Dryopteris setigera* Bl. ;
- *Acrostichum aureum* L.

Les spores des deux premières ont été prélevées sur des frondes provenant des Jardins des Plantes de Montpellier et de Lyon. Les spores de la troisième espèce nous ont été rapportées de Côte-d'Ivoire, par R. NOZERAN. Il s'agit d'une Fougère de la mangrove.

Quelques essais ont été faits également sur deux autres Polypodiacées : *Dryopteris parasitica* L. et *Nephrolepis pectinata* Schott, espèces cultivées dans les serres à Montpellier, et sur une Cyathéacée : *Lygodium Smithianum* Presl. provenant de la Côte-d'Ivoire.

Le développement des prothalles a été obtenu en culture aseptique, selon la méthode mise au point par M^{me} HUREL-PY. Les spores sont stérilisées au chlorure de chaux à 5 p. 100, pendant vingt minutes. Leur suspension est filtrée sur papier-filtre stérilisé, puis elles sont rincées à l'eau stérile et ensemencées sur les milieux dont on veut étudier l'influence sur la morphogenèse des prothalles.

Les milieux de cultures ont été préparés à partir d'eau bi-distillée sur Pyrex. Nous avons utilisé la solution de Knop, mais aussi d'autres liquides nutritifs minéraux, que nous avons mis au point et dont la composition sera donnée au cours de notre exposé. Nous n'avons pas employé de milieux gélosés. La gélose est, par elle-même, une substance organique complexe et ne permet donc pas d'établir des conditions expérimentales précises.

Les liquides nutritifs ont été quelquefois enrichis en oligo-éléments, par addition de quantités variables (0,5 cm³ à 1,5 cm³) de la solution de Berthelot. Nous indiquons ci-dessous sa composition :

H ₂ O	1 000 cm ³
(SO ₄) ₃ Fe ₂	50 g
SO ₄ Mn, 7 H ₂ O	2 g
SO ₄ Ca, 2 H ₂ O	0,5 g
Cl ₂ Ni, 6 H ₂ O	0,05 g
Cl ₂ Co, 6 H ₂ O	0,05 g
(SO ₄) ₂ Ti ₂	0,20 g
SO ₄ Zn, 7 H ₂ O	0,10 g
SO ₄ Cu, 5 H ₂ O	0,10 g
SO ₄ Gl, 4 H ₂ O	0,10 g
BO ₃ H ₃	0,05 g
SO ₄ H ₂ à 66° Bé	1 cm ³

Nous avons encore cultivé les spores sur de l'extrait de terre préparé selon la technique de POCHON. On mélange, à poids égal, terre (assez riche) et eau du robinet ou, mieux, eau de source ou de puits. On laisse macérer vingt-quatre heures à la température du laboratoire. On chauffe une heure à 130°. Après décantation, on filtre à chaud sur papier. On répartit en récipients bouchés au coton. On stérilise vingt minutes à 120°.

Le champignon imparfait : *Alternaria humicola*, dont il sera question au cours de notre exposé, a été isolé sur milieu de Langeron, à partir de frondes parasitées de *Pteris longifolia*.

Pour l'isolement des micro-organismes du sol, nous avons préparé des plaques de silico-gels suivant la méthode d'AUGIER et POCHON. Elle consiste à mélanger du silicate de sodium pur (Prolabo R. P.) dilué au quart à un égal volume d'une solution d'acide chlorhydrique de densité 1,10 (cette solution s'obtient en ajoutant 450 cm³ d'eau distillée à 550 cm³ d'acide concentré pur $d = 1,19$). Le mélange est porté rapidement à l'ébullition; on laisse dégazer trente secondes environ. Puis on répartit en boîtes. On laisse reposer cinq heures au moins, si possible une nuit. La dialyse contre eau courante dure quarante-huit heures, puis une heure contre eau distillée.

Les silico-gels ont été imprégnés avec la solution mère indiquée par WINOGRADSKY :

Phosphate monopotassique	1 g
Sulfate de magnésium	0,5 g
Chlorure de sodium	0,5 g
Sulfate de fer	0,02 g
Sulfate de manganèse	0,02 g
Eau distillée	200 cm ³

Pour des boîtes de 9 cm de diamètre, on prend 2 cm³ de cette solution mère. On ajoute 2 à 3 cg de carbonate de calcium et la dose de la substance qui doit permettre le développement sélectif de tel ou tel groupe de micro-organismes. Le pH est ajusté à 7 par une solution de potasse à 2 p. 100.

On délaye avec un peu d'eau distillée et on fait bouillir dans une petite fiole. On jette le liquide bouillant sur le silico-gel, on rince la fiole avec un peu d'eau bouillante.

Les silico-gels sont mis à évaporer à 55°, jusqu'à disparition de la nappe liquide.

Les substances additionnelles que nous avons principalement utilisées ont été le nitrate de potassium, la glucosamine et la cellulose, apportée sous forme de petits carrés d'un tissu de lin disposés régulièrement à la surface de la plaque.

L'ensemencement des silico-gels a été réalisé selon la méthode des grains de terre de WINOGRADSKY.

Pour suivre le déroulement des étapes de la morphogenèse des prothalles, nous avons déterminé l'emplacement des mitoses. Les jeunes prothalles ont été fixés au Carnoy (acide acétique : 1 partie, alcool absolu : 3 parties). La fixation doit durer plusieurs jours, car les chloroplastes, très nombreux et très gros, cachent le noyau et ne sont détruits qu'assez lentement. La coloration nucléaire a été obtenue par le carmin ferrique de BELLING.

Pour étudier la disposition des parois cellulaires, l'éclaircissement par le fixateur donne de bons résultats. Une méthode plus rapide, presque instantanée, consiste à placer les prothalles entre lame et lamelle, dans une solution concentrée d'hypochlorite. Les cloisons sont extrêmement nettes, mais l'examen doit être fait sans tarder, car la désagrégation des prothalles a lieu au bout d'un temps très court.

En ce qui concerne les expériences de régénération des prothalles, les fragments importants ont été découpés avec une lame de rasoir. Quant aux filaments qui font suite à la spore, ou aux fragments de petite taille, ils ont été sectionnés, sous la loupe binoculaire, à l'aide d'aiguilles montées.

DEUXIÈME PARTIE

HISTORIQUE

Les prothalles des Filicinées ont été étudiés par de nombreux auteurs qui s'attachèrent à décrire toutes les phases du développement, depuis l'éclatement de la spore, au moment de la germination, jusqu'à la constitution du prothalle mûr, porteur des organes sexuels. Ces investigations ont donné une idée précise du déroulement de la croissance. Elles ont montré, aussi, qu'il existe des structures morphologiques différentes suivant les familles.

Le type le plus courant est constitué par un prothalle cordiforme (Polypodiacées, Osmundacées, Gleichéniacées, Cyathéacées, Marattiacées, Schizéacées). Mais certaines familles présentent un prothalle filamenteux (Hyménophyllacées) ou plus ou moins globuleux et digité (Ophioglossacées). Enfin, chez les Marsiliacées et les Salviniacées, les gamétophytes issus des micro- et des macrospores sont très particuliers. Leur taille est très réduite. Ils s'organisent en restant inclus dans l'enveloppe sporale ou en faisant à peine saillie au dehors.

Les noms de HOFFMEISTER, KNY, BAUKE, BOWER, WIEGAND, GEBEL, BURCK, PRANTL, JONKMANN, RAUWENOFF, KLEBS, LEITGEB, STOKEY, CAMPBELL, sont liés à toutes ces observations.

A ces travaux descriptifs s'ajoutèrent des études expérimentales. Elles avaient pour but de déterminer les conditions indispensables à la germination, ainsi que les facteurs agissant sur la morphogenèse. Les pionniers, dans ce domaine, furent HOFFMEISTER, LEITGEB, SACHS, KNY, PRANTL, KLEBS, etc.

La germination.

Tous les auteurs sont unanimes pour reconnaître le rôle de l'humidité sur la germination. En ce qui concerne l'influence de la lumière, les premières observations sont contradictoires. Pour SENEBIER, HUMBOLDT, INGENHOUS, TREVIRANUS, la lumière empêche la germination. D'autres, KAULFUSS, LESZCZYE, SUMINSKI, MERKLIN, WIEGAND, HOFFMEISTER, affirment qu'elle est nécessaire. GOPPERT, expérimentant sur des spores d'*Osmunda*, indique qu'elles germent à l'obscurité, résultat contredit plus tard par KNY. Les auteurs établissent finalement que la lumière est un facteur indispensable, bien qu'il soit possible d'obtenir chez certaines

espèces quelques germinations sporadiques à l'obscurité. Seule, d'après KLEBS, *Pteridium aquilinum* donnerait un pourcentage élevé de germinations en l'absence de lumière.

Si la lumière blanche exerce une action favorable, en sera-t-il de même des lumières colorées ? L'action des différentes régions du spectre a été spécialement étudiée par KLEBS. Cet auteur montre que les radiations rouges et jaunes permettent la germination, mais que les bleues l'empêchent complètement. BORODIN confirme ce fait sur *Aspidium spinulosum*. SCHULTZ indique qu'en lumière bleue la germination est retardée seulement. Ces résultats contradictoires proviennent peut-être du fait que les espèces soumises à l'expérimentation n'étaient pas les mêmes.

Le rôle de la température a été également étudié. Les auteurs ont vu qu'elle peut varier dans de larges limites sans gêner la germination. Ainsi, pour *Pteris longifolia*, KLEBS mentionne qu'elle peut s'échelonner entre 12 et 40°, mais que l'optimum est compris entre 25 et 30°.

La densité de l'ensemencement influe sur la vitesse de germination. M^{me} HUREL-PY indique que les spores isolées germent plus difficilement que les spores groupées.

PERRIN et M^{me} HUREL-PY établissent, par de nombreux essais, que le glucose favorise souvent la germination.

Une observation sur le rôle des micro-organismes a été faite par M^{me} HUREL-PY. Cet auteur, s'adressant à six espèces différentes, voit que les spores traitées par des antiseptiques germent plus tôt sur les milieux non stérilisés que sur les milieux stérilisés. Les micro-organismes favoriseraient donc la germination.

La morphogenèse.

Abordons, maintenant, les travaux consacrés aux facteurs agissant sur la morphogenèse des prothalles. De ces investigations, la notion de l'extrême plasticité du gamétophyte se dégagea très vite. Les auteurs s'aperçurent que la forme et l'orientation des prothalles, l'apparition et la position d'organes sexuels dépendent d'un grand nombre de facteurs.

Donnons, tout d'abord, une description rapide du développement dans les conditions naturelles, en prenant pour exemple le prothalle cordiforme des Polypodiacées. La spore éclate. Il en sort une cellule incolore qui est le premier rhizoïde et une cellule chlorophyllienne. Cette cellule, par des divisions transversales répétées, donne naissance à un filament plus ou moins long. Puis, dans la cellule terminale de ce filament, deux cloisons obliques isolent une cellule triangulaire. Cette apicale fonctionne et donne une région méristématique en forme de spatule. Cette lame cellulaire grandit et s'échancre, la forme en cœur se dessine. Puis, dans la région médiane, des divisions cellulaires en hauteur contribuent à donner une zone épaissie : le coussinet. C'est dans cette région que se développent les organes sexuels.

D'autres familles, dont le prothalle est cordiforme, présentent quelques variantes dans le développement. Ainsi, le stade filamenteux, en particulier, peut être entièrement supprimé avec formation d'emblée d'une lame cellulaire (Osmundacées) ou d'une masse globuleuse de cellules (Marattiacées).

Les travaux des premiers auteurs ont montré l'action de la lumière sur l'importance du filament germinatif. KLEBS mentionne qu'en lumière très faible le prothalle de *Pteris longifolia* croît comme un tube indivis. Si l'éclairage est plus fort, des cloisons transversales se produisent. Il ajoute que le nombre des divisions augmente avec l'intensité de la lumière. PICKETT et THAYER remarquent, aussi, que le stade filamenteux se prolonge chez *Polypodium vulgare*, lorsque la lumière est insuffisante. STOKES, ayant étudié les prothalles des Cyathéacées, mentionne qu'ils diffèrent des Polypodiacées par la formation immédiate d'une lame cellulaire. Il arrive, cependant, par une réduction très forte de l'intensité lumineuse, à provoquer l'apparition d'un filament.

La prolongation anormale du stade filamenteux dépend encore d'autres facteurs. GEBEL, ayant observé des spores germant à l'intérieur d'un sporange ou ensemencées trop serrées, voit qu'elles donnent des prothalles d'abord longuement filamenteux.

Selon M^{me} HUREL-PY, les prothalles seraient aussi filamenteux lorsque les milieux nutritifs sont trop pauvres ou contiennent des substances toxiques. Il en serait de même, encore, lorsque le développement a lieu sous une épaisse couche liquide. Ici interviennent, sans doute, les conditions de vie en anaérobiose.

Un certain nombre de facteurs responsables de l'apparition ou de la prolongation du filament ont donc été mis en évidence. Il s'agissait ensuite de déterminer ceux qui gouvernent la formation de la région méristématique.

PRANTL (1879) montre que la présence de nitrates est indispensable pour que se déclenchent les divisions obliques et longitudinales. Il observe, en effet, que le développement des prothalles peut être arrêté, sans qu'il y ait constitution d'un méristème, s'ils sont cultivés sur milieux dépourvus de nitrates.

Il faut ajouter, ici, une observation de M^{me} HUREL-PY. Elle concerne la croissance, sur milieux gélosés, de gamétophytes cultivés aseptiquement. Ceux-ci ne restent pas isolés, comme il est de règle dans la nature, mais donnent naissance à des prothalles fils qui demeurent attachés. M^{me} HUREL-PY désigne sous le nom de « colonie prothallienne » la petite masse foliacée ainsi formée.

La lumière joue également un rôle considérable sur la formation de la région méristématique. Toutefois, KLEBS indique que la quantité de lumière blanche nécessaire varie suivant les espèces. A titre d'exemple, *Dryopteris filix-mas* demande une intensité lumineuse douze fois moins forte qu'*Aneimia phyllitidis*.

Le rôle des différentes radiations sur la morphogenèse des prothalles a été

très étudié. HEIM (1896) indique que des prothalles, placés sous verre bleu, ont une forme normale bien qu'un peu étirée. BURGERSTEIN (1908) dit que les prothalles se développent plus lentement en lumière bleue. MEINHOLD (1911) pense que la lumière bleue active beaucoup les divisions cellulaires chez les prothalles, de même que chez certaines Algues : Diatomées et Chlorophycées. PRANTL (1879) estime que le développement, en lumière bleue, diffère très peu de celui obtenu en lumière blanche, mais que les radiations jaunes et rouges ralentissent le développement en largeur et donnent des prothalles étiolés. Isaburo NAGAI (1914) est du même avis que PRANTL en ce qui concerne les effets de la lumière bleue. Mais il pense qu'en lumière rouge les effets sont contradictoires suivant les espèces, les intensités lumineuses et la concentration des solutions colorées. KLEBS (1917) réalisa de très nombreuses expériences, afin de déterminer l'effet des radiations de différentes longueurs d'onde. Il constate que les lumières rouge et jaune permettent uniquement la formation du stade filamenteux et que la lumière bleue déclenche les divisions obliques et longitudinales. Il ajoute, cependant, qu'un filament composé seulement de 1, 2, 3 cellules ne pourrait se développer en lumière bleue. Celle-ci ne serait donc pas favorable au début de la croissance. Il arrive aussi à cette conclusion que la qualité de la lumière reçue (longueur d'onde) importe beaucoup plus que la quantité. Celle-ci, pour produire le même résultat, peut varier dans de larges limites. KLEBS utilise à cet effet des lampes de différentes puissances.

TEODORESCO (1929) observa que c'est dans la partie la plus réfrangible de spectre (surtout le bleu et l'indigo) que les Végétaux supérieurs poussent le mieux et présentent le maximum de développement de tous leurs tissus. L'effet produit par le rouge orangé se rapprocherait de celui obtenu à l'obscurité.

PERRIN (1908) mentionne que les prothalles sont plus allongés en lumière bleue et les découpures plus accentuées. Placés en lumière violette, le développement est rapide, le verdissement intense, mais la forme en cœur n'est pas nette. Tous les auteurs sont donc d'accord pour reconnaître à la lumière bleue la faculté de déclencher les divisions obliques et longitudinales. Par contre, les lumières rouge et jaune permettent seulement les divisions transversales.

CHARLTON, reprenant les expériences de KLEBS, confirme que des prothalles présentant une petite spatule, transférés de la lumière bleue en lumière rouge, redonnent à partir de l'apicale un nouveau stade filamenteux.

Le développement ultérieur du prothalle, à partir de la jeune région méristématique, se poursuit normalement si l'intensité lumineuse est suffisamment élevée (GEBEL, KLEBS) et l'apport de nitrates adéquat (PRANTL).

M^{me} HUREL-PY établit que certains sucres : saccharose, lévulose, maltose, glucose, ont une action stimulante sur la croissance de certaines espèces et en particulier de *Gymnogramme calomelanos*. D'autres composés, au

contraire, empêchent tout développement : galactose, inuline, amidon. Quant au lactose, il détermine la formation de prothalles filamenteux.

L'acide indole-acétique, selon cet auteur, exerce aussi une influence favorable sur le développement des prothalles, alors que la vitamine B₁ ou l'acide pantothénique n'ont aucun effet.

Quelques études portant sur le rôle du pH (HUREL-PY, COURBET) ont montré que celui-ci peut varier dans de larges limites. Mais l'optimum serait situé aux environs de 3,5 à 4.

Des travaux ont été réalisés pour étudier la direction de croissance du gamétophyte. PRANTL mentionne que le jeune filament est doué d'un phototropisme positif et d'un géotropisme négatif. LEITGEB, PRANTL, GÆBEL montrent que, lorsque le filament donne une lame cellulaire ou que celle-ci se forme immédiatement, la surface étalée se place perpendiculairement aux rayons incidents si la lumière est de forte ou de moyenne intensité. Ils estiment que l'influence du géotropisme et de l'humidité sont négligeables. La seule exception connue concerne les jeunes stades de *Ceratopteris*, chez laquelle LEITGEB observe l'orientation de l'apicale sous l'influence de la pesanteur. Dans ce cas, les cellules découpées se placent au-dessus et au-dessous. Le prothalle se tient verticalement, mais il ne tarde pas, ensuite, à prendre la position normale, c'est-à-dire à se placer à angle droit par rapport aux rayons incidents. M^{me} HUREL-PY signale que les jeunes prothalles, cultivés en tubes, s'orientent du côté de la source lumineuse.

Un problème particulièrement intéressant est soulevé par le développement des Ophioglossacées qui a lieu en présence de mycorrhizes. Cette association prothalle-champignon endophyte a été vue par plusieurs auteurs. METTENIUS (1856) la signale chez des prothalles d'*Ophioglossum pendulosum*, développés au voisinage de la plante mère. ATKINSON (1893) l'observe dans toutes les espèces de *Botrychium* et d'*Ophioglossum*. BRITTON et TAYLOR (1901) remarquent également que certains rhizoïdes de *Schizea pusilla* renferment un endophyte. CAMPBELL (1905) mentionne qu'il en existe aussi chez plusieurs espèces de Gleicheniacées et de Marattiacées. Chez des prothalles, non de Fougères, mais de Lycopodes, dans leur station naturelle, GÆBEL (1887) découvre une infection mycélienne.

Formation des organes reproducteurs.

Un autre problème à résoudre est celui des facteurs agissant sur la formation des organes sexuels. Les auteurs ont remarqué que les anthéridies apparaissent facilement, leur apparition serait même d'autant plus précoce que les conditions de culture sont moins favorables. PRANTL, GÆBEL, CZAJA, CAMPBELL, HUREL-PY montrent que des milieux de culture très pauvres : eau, Knop au 1/100, entraînent la formation d'un grand nombre d'anthéridies.

Lorsque les prothalles de *Gymnogramme calomelanos* sont maintenus en

inanition ou cultivés en présence de substances toxiques, en particulier de lactose, M^{me} HUREL-PY observe des cas où une cellule sur deux se transforme en anthéridie.

WORONOW mentionne que des prothalles filamenteux, peu éclairés, de *Lygodium japonicum* ne donnent pas d'anthéridies, mais qu'il s'en produit lorsqu'ils poussent très serrés et dans une humidité insuffisante.

En ce qui concerne les archégonies, de nombreux auteurs (GÖBEL, PRANTL, CAMPBELL, PERRIN) ont vu qu'elles prennent naissance à partir du coussinet. En d'autres termes, le stade des divisions dans un même plan doit être dépassé. Leur présence est liée au jeu de divisions cellulaires en épaisseur aboutissant à la constitution d'une région à plusieurs assises de cellules. PRANTL en particulier, dit que, sur des prothalles réduits à l'état de lame cellulaire, aucun organe femelle ne se produit jamais. Quant à la formation du coussinet, elle est liée à une nutrition suffisante, riche en nitrates et à un éclairage assez intense. PRANTL l'avait observé plus particulièrement chez *Polypodium vulgare*, *Asplenium filix-femina* et *Ceratopteris thalictroides*. Il a montré également que des prothalles mâles d'*Osmunda regalis*, ayant végété sur milieux pauvres et transplantés ensuite sur des milieux bien pourvus en nitrates, reprennent un développement normal et produisent des archégonies.

Le même phénomène est observé chez les Équisétinées, où l'action des milieux riches sur la formation des archégonies est montrée par cet essai de BUCHTIEN sur les prothalles d'*Equisetum arvense*. Cultivés sur sol sableux, ils donnent uniquement des anthéridies. Transportés sur sol argileux, les archégonies apparaissent.

M^{me} HUREL-PY observe l'influence du glucose sur la constitution des organes reproducteurs de *Gymnogramme calomelanos*. Lorsque le taux de ce sucre est de 2 p. 100, les prothalles sont hermaphrodites. Si l'on augmente la teneur jusqu'à 3,5 p. 100, seules les archégonies sont présentes. Cet auteur indique, à ce propos, qu'il est exceptionnel que des prothalles soumis à de mauvaises conditions de culture réagissent en devenant unisexués femelles. SOSSOUNTZOV, étudiant la même espèce, remarque l'action favorisante du glycolle sur la formation des organes femelles.

PERRIN, avec un éclairage insuffisant, arrive à retarder ou même à empêcher le développement des archégonies, quelles que soient les conditions du milieu. Le même phénomène a été observé sur les Hépatiques. VOTH et HAMNER ont vu qu'aucun anthéridiophore ou archégoniophore n'apparaît sur le prothalle de *Marchantia polymorpha*, lorsque l'intensité lumineuse n'est pas assez forte.

Quelques auteurs ont signalé l'existence de prothalles unisexués. PICKETT et THAYER l'indiquent comme un fait constant chez *Pellea densa*. PERRIN obtient, quelquefois, dans ses cultures, mais sans pouvoir en déterminer la cause, des prothalles uniquement pourvus d'archégonies. Mais, pour M^{me} HUREL-PY, ce phénomène doit être très rare dans la nature.

D'autres observations sur la formation des archégonies méritent d'être mentionnées. Les auteurs ont vu que la position des organes femelles dépend

de la direction des rayons incidents. Normalement, les archégones s'ouvrent sur la face ventrale. Mais il est possible d'inverser cette position. LEITGE et PRANTL ont réalisé dans ce sens de nombreuses expériences portant sur un grand nombre d'espèces. En éclairant par-dessous des prothalles de *Ceratopteris* flottant en milieu liquide, LEITGE obtient un renversement complet de la dorsiventralité, les archégones débouchant sur la face primitivement dorsale. PRANTL, avec une illumination de même intensité sur les deux faces, obtient la formation d'archégones sur les deux côtés du prothalle de *Polypodium vulgare*. ATKINSON mentionne le même fait sur des prothalles de *Pteris serrulata* très serrés qui s'étaient redressés presque perpendiculairement, de telle sorte qu'ils recevaient la lumière des deux côtés.

Il ressort de tous ces travaux qu'un certain nombre de facteurs morphogénétiques ont été mis en évidence : intensité lumineuse, radiations de différentes longueurs d'onde, richesse du milieu nutritif, mycorrhizes.

Les milieux de culture.

Mais les premiers auteurs qui abordèrent l'étude expérimentale du développement des prothalles de Fougères n'utilisaient pas de milieux aseptiques. Ils ensemençaient les spores sur terre, sphagnum ou en solutions minérales non stérilisées. Un grand progrès est réalisé avec l'emploi de milieux synthétiques aseptiques qui permettent d'opérer dans des conditions très précises. Les premiers essais dans ce sens remontent à PERRIN. Il traite au sublimé des frondes portant des spores non encore ouvertes. Les spores recueillies sont ensemencées sur un milieu renfermant des sels minéraux, 2 p. 100 de glucose et 1 p. 100 de peptone. En 1931, BECQUEREL et, en 1934, VIADESCO cultivent aseptiquement des spores sur milieux minéraux. Plus récemment, M^{me} HUREL-PY a mis au point une technique plus simple et plus efficace, inspirée de la méthode des horticulteurs pour obtenir la culture pure des Orchidées. Cette technique comporte la stérilisation des spores au chlorure de chaux. Nous l'avons décrite plus haut. Elle est un moyen très précieux pour arriver à cerner, les uns après les autres, tous les facteurs qui influent sur la morphogenèse des prothalles.

La régénération des prothalles.

Un autre aspect très particulier de la biologie des prothalles a retenu l'attention des chercheurs. Il s'agit de leur pouvoir de régénération, mais seuls les prothalles cordiformes ont été étudiés à cet égard.

Les expériences de STANGE, HEIM, GEBEL, KNY montrent que chaque cellule est virtuellement capable d'une activité de régénération. Elles établissent aussi que les résultats sont différents selon que les fragments de prothalles possèdent ou non la région apicale. Dans le premier cas, il se

développe de nombreux prothalles adventifs. Dans le second cas, un prothalle typique se reforme. PERRIN signale la facilité avec laquelle des prothalles cultivés en milieux aseptiques et traumatisés donnent des pousses adventives. Isaburo NAGAI obtient le même résultat, après avoir plasmolysé et déplasmolysé les prothalles. ALBAUM établit le rôle des hormones au cours des phénomènes de régénération. WETMORE et MOREL mettent en évidence une prolifération très particulière des cellules, chez *Osmunda cinnamomea*, et dénomment « Fern callus tissue » les formations anormales obtenues. Ils observent ce fait dans une de leurs cultures sur milieu de Knudson. A côté de prothalles cordiformes, ils en découvrent quelques autres, portant des masses cellulaires pauvrement pourvues en chloroplastes.

Ils repiquent ces prothalles dans le même milieu, mais additionné de diverses vitamines (thiamine, inositol, pyridoxine, pantothénate de calcium, biotine, acide nicotinique). Ces substances provoquent une accélération de la croissance. Les « cals » se développent et prennent l'aspect de masses friables et granuleuses. Ils sont constitués de parenchyme à larges cellules au milieu desquelles des îlots méristématiques disséminés fonctionnent indépendamment les uns des autres et produisent une multitude de petits nodules. En certains points, quelques cellules se transforment en trachéides.

WETMORE et MOREL, après ces premières observations, tentent de provoquer expérimentalement l'apparition des « cals ». Ils ensemencent les spores d'*Osmunda cinnamomea* sur un milieu contenant de fortes concentrations d'acide naphthalène-acétique. Ils s'aperçoivent qu'elles donnent des masses indifférenciées de cellules non colorées. Ces formations se développent peu. Repiquées sur un milieu non additionné d'acide naphthalène-acétique, elles cessent de croître ou reforment des prothalles chlorophylliens normaux.

Si les prothalles sont capables de régénérer d'autres prothalles, un autre phénomène plus surprenant a été observé. Il s'agit de la formation à partir de jeunes frondes ou de jeunes racines de nouveaux stades prothalliformes. Le phénomène a été signalé pour la première fois par GEBEL en 1907. Par la suite, WORONINE, BROWN, LANG, ALLEN, ERNST, FARMER et DIGBY, HEILBRONN, SCHARWZENBACK, MARCHAL, WETTSTEIN, LA RUE, BEYERLEE rapportent des faits comparables.

Les travaux de Miss LAWTON (1932-1936) sont particulièrement intéressants. Cet auteur cultive aseptiquement des prothalles de *Cystopteris fragilis* et d'*Osmunda regalis*. Lorsque les sporophytes sont formés, elle sectionne les feuilles primaires et les place sur un milieu nutritif. Elle remarque que ces jeunes feuilles produisent facilement, à partir de cellules marginales du limbe, des prothalles atypiques ou d'autres qui sont cordiformes. Sur ces derniers, des anthéridies et des archégonies typiques se constituent. La fécondation a lieu et des sporophytes apparaissent.

Miss LAWTON observe que les cellules des prothalles régénérés sont plus grandes que celles des prothalles issus des spores. De même, la taille des cellules des feuilles, sur les sporophytes secondaires, est plus importante

que sur le sporophyte initial. Des études caryologiques lui montrent qu'il s'agit de prothalles diploïdes et que ceux-ci donnent naissance à des sporophytes tétraploïdes.

Cette vue d'ensemble des travaux réalisés sur les prothalles de Fougères donne une idée de l'orientation des recherches passées. Si les études descriptives ont été très nombreuses, les expériences de morphologie expérimentale sont peu abondantes. De nombreuses voies s'ouvrent donc dans ce sens, et ces nouvelles recherches ne pourront que bénéficier du perfectionnement apporté aux techniques, la méthode de culture aseptique en particulier marquant un grand progrès.

TROISIÈME PARTIE

RECHERCHES PERSONNELLES

Les travaux descriptifs des anciens auteurs ont montré que, dans la nature, l'aspect des prothalles présente une grande fixité. Par contre, en cultures expérimentales, on s'aperçoit qu'ils sont très sensibles aux conditions environnantes et qu'ils réagissent souvent par la production de structures anormales.

Rappelons, tout d'abord, le mode de formation habituel du prothalle cordiforme lorsque l'ensemencement est pratiqué sur le sol. L'éclatement de la spore livre passage à une cellule incolore qui est le premier rhizoïde. La germination se poursuit par l'émission d'une cellule chlorophyllienne. Celle-ci se divise et donne un filament pluricellulaire plus ou moins important. Il se forme ensuite, à l'extrémité de ce filament, une région méristématique. Cette lame cellulaire s'agrandit, s'échancre, s'épaissit en son milieu. On aboutit, finalement, au prothalle cordiforme qui portera anthéridies et archégonas.

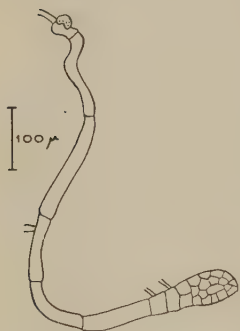


Fig. 1. — *Pteris longifolia*.

Prothalle développé en milieu de Knop. Le stade filamentueux est anormalement prolongé.

Mais les cultures réalisées sur milieux synthétiques conduisent souvent à des anomalies : prolongation du stade filamentueux, apparition de formes bifurquées, constitution à partir de la cellule apicale ou des cellules marginales de nouveaux stades filamentueux.

Nous l'avons constaté nous-même sur un assez grand nombre de Fougères, *Pteris longifolia*, *Dryopteris setigera*, *Dryopteris parasitica*, *Nephrolepis pectinata*, etc., lorsque les prothalles effectuent leur développement en milieu de Knop (fig. 1).

La conclusion qui s'impose est que les solutions nutritives utilisées sont déficientes puisqu'elles ne permettent pas le développement normal des espèces précitées. Un ou plusieurs facteurs morphogénétiques sont, sans aucun doute, absents.

Nous nous sommes alors fixé pour but d'obtenir *in vitro* une croissance des prothalles identique à celles qu'on observe dans les conditions naturelles.

Pratiquement, le problème revient à mettre au point des milieux synthétiques variés, au moyen desquels il sera possible de cerner, les uns après

les autres, les différents facteurs qui influent sur le déroulement de la morphogenèse. Nous verrons, au fur et à mesure de notre exposé, combien l'action de certains facteurs physiques, chimiques ou biologiques peut être déterminante sur la germination des spores et la formation du gamétophyte.

Nos investigations sont faites spécialement sur *Pteris longifolia*, *Acrostichum aureum* et *Dryopteris setigera*, accessoirement sur *Dryopteris parasitica* et *Lygodium Smithianum*.

CHAPITRE PREMIER

INFLUENCE DE QUELQUES FACTEURS PHYSIQUES ET CHIMIQUES SUR LE DÉVELOPPEMENT DES PROTHALLES

Au cours des essais réalisés afin d'obtenir *in vitro* le développement normal des prothalles de Fougères, nous avons utilisé différents milieux, certains très simples tels que l'eau ou des solutions ne renfermant qu'un seul composé minéral, d'autres beaucoup plus complexes renfermant diverses sources d'azote, des oligo-éléments ou des facteurs biologiques.

Nous décrirons, successivement, pour chaque espèce, l'aspect que prennent les cultures sur les solutions nutritives employées.

A. — Milieux simples.

1^o Action de l'eau. — Le milieu le plus simple, qu'il est logique d'essayer en tout premier lieu, est l'eau distillée. Nous avons essayé de voir le rôle exact qu'elle joue au cours des premiers stades du développement, ou, en d'autres termes, son influence sur la germination.

a. *Pteris longifolia* et *Dryopteris setigera*. — Les sporesensemencées sur eau distillée éclatent au bout de quatre à huit jours. Le rhizoïde en sort. Si on prolonge l'expérience, on s'aperçoit que souvent un deuxième et beaucoup plus rarement un troisième rhizoïde s'échappent de la spore et atteignent une longueur démesurée. Dans des cas peu nombreux, la cellule verte commence à pointer, mais le développement ne va pas plus loin.

b. *Acrostichum aureum*. — Cette espèce se comporte différemment. Le rhizoïde est émis le premier. Puis la cellule chlorophyllienne sort à son tour. Elle se divise deux, trois, quatre fois transversalement. Tout s'arrête ensuite à ce stade. Ainsi donc, l'eau seule permet chez *A. aureum* l'émission de la première cellule verte.

Devant les résultats de l'expérience précédente, la question se pose de savoir quel facteur gouverne l'émission de la première cellule chlorophyllienne chez *P. longifolia* et *D. setigera*. Nous nous sommes adressée à différents sels minéraux dépourvus d'azote ou en renfermant sous forme d'ions NO_3 , NO_2 , NH_4 . Quelle a été leur action ?

2^o Action des sels minéraux dépourvus d'azote. — Lorsque les spores sontensemencées sur une solution de sulfate de magnésium, de phosphate

de potassium, de chlorure de calcium (0,25 à 1g. p. 1 000), l'aspect de la germination est le même que sur eau distillée. On constate la présence de un, deux rhizoïdes extrêmement longs.

3^o Action des nitrates, nitrites et sels d'ammonium. — Les sels utilisés ont été les suivants : nitrate de potassium et de calcium, nitrite de potassium ou d'ammonium, chlorure et sulfate d'ammonium (0,25 à 1g. p. 1 000).

Dans tous ces cas, la cellule chlorophyllienne ne tarde pas à sortir de la spore et à se diviser plusieurs fois transversalement. Mais le développement s'arrête ensuite.

CONCLUSIONS. — La germination des spores des Fougères que nous avons étudiées se fait donc en deux stades : émission d'un rhizoïde incolore, puis d'une cellule chlorophyllienne. La première phase se produit toujours en présence de l'eau ; mais, pour certaines espèces, comme *P. longifolia* et *D. setigera*, la deuxième ne s'effectue qu'en présence des sels minéraux azotés.

B. — Milieux complexes.

Après l'essai de milieux liquides très simples, abordons l'étude du développement des prothalles lorsque les conditions réalisées sont beaucoup plus complexes.

Les cultures ont été soumises à des éclaircissements variables et placées sur des solutions nutritives très diverses : milieu de Knop à différentes concentrations, dans lequel nous avons ajouté ou non les éléments métalliques de la solution de Berthelot, milieux renfermant, à la fois, des nitrates et une autre source d'azote minéral (nitrites ou sels d'ammonium), milieux sans nitrates mais pourvus d'azote ammoniacal.

Les résultats obtenus diffèrent suivant les espèces mises en expérience, comme nous allons nous en rendre compte.

I. — *Pteris longifolia*.

1^o Influence de la concentration du milieu de Knop et des oligo-éléments. — Lorsque les spores de *Pteris longifolia* sontensemencées sur terre

Fig. 2. — Prothalle de *Pteris longifolia* développé sur terre humide.



humide, on obtient rapidement, ainsi que le décrit GÆBEL et que nous l'avons nous-même observé, une zone méristématique, le stade filamenteux étant très réduit ou même supprimé (fig. 2).

Par contre, si les spores sont ensemencées sur milieu de Knop, le stade

filamenteux, pour la plupart d'entre elles, se prolonge anormalement et le méristème n'apparaît qu'assez tard.

Il ressort de ce fait que le milieu de Knop n'est pas favorable au développement normal de *Pteris longifolia*. Sera-t-il possible, en modifiant le milieu de culture, d'obtenir des aspects identiques à ceux observés dans la nature ? Nous avons, dans ce but, réalisé une première série d'expériences dans laquelle nous avons fait varier, d'une part, la concentration du milieu de Knop, d'autre part, la teneur en oligo-éléments.

Les conditions d'expérience. — Le milieu de Knop a été utilisé tel quel ou dilué au $1/4$ et au $1/8$. Mais il a été modifié, en ce sens que nous n'avons pas ajouté les traces de fer qu'il comporte habituellement, ceci afin d'obtenir un milieu sans aucun élément métallique surajouté et dont l'action sur le développement des prothalles pourrait être plus rigoureusement comparée à celle des milieux pourvus des diverses doses d'oligo-éléments. Nous désignerons conventionnellement ces milieux par les signes K, $K\ 1/4$, $K\ 1/8$.

Pour les oligo-éléments, la solution employée est celle de Berthelot. Les auteurs en ajoutent généralement $0,5\text{ cm}^3$ par litre de milieu. Mais nous avons augmenté la dose jusqu'à 1 cm^3 et $1,5\text{ cm}^3$ par litre. Comme pour le milieu de Knop, nous adopterons des signes conventionnels. Les concentrations de $0,5$, 1 , $1,5\text{ cm}^3$ par litre seront désignées par n , $2n$, et $3n$.

Devant la netteté des résultats obtenus, nous avons pensé que nous pouvions négliger les traces d'éléments métalliques qui peuvent être présents même dans les sels minéraux très purs (Prolabo R. P.) employés dans la préparation des milieux.

Pour faciliter la clarté de l'exposé, nous pouvons représenter, de la façon suivante, la série des milieux utilisés :

K	$K + n$	$K + 2n$	$K + 3n$
$K\ 1/4$	$K\ 1/4 + n$	$K\ 1/4 + 2n$	$K\ 1/4 + 3n$
$K\ 1/8$	$K\ 1/8 + n$	$K\ 1/8 + 2n$	$K\ 1/8 + 3n$

Les cultures ont été placées en lumière du jour, sans insolation directe (septembre à janvier), et à la température du laboratoire.

Nous étudierons d'abord la germination proprement dite, puis le développement ultérieur.

Germination. — La germination commence entre le quatrième et le cinquième jour. La grande majorité des spores ont germé dans tous les milieux à base de Knop entier, de Knop au $1/4$, ainsi que dans le milieu $K\ 1/8$. Elle est beaucoup moins avancée dans le milieu $K\ 1/8 + n$; elle débute respectivement au sixième et septième jour dans les cultures sur $K\ 1/8 + 2n$ et $K\ 1/8 + 3n$. Les oligo-éléments, à doses élevées, retardent donc la germination dans les milieux les plus dilués.

À côté des formes normales : spores avec rhizoïde et cellule chlorophyllienne allongée, il faut mentionner la présence de formes curieuses, dans les milieux, K, $K\ 1/4$, $K\ 1/8$, $K\ 1/4 + n$, $K\ 1/8 + n$ et $K\ 1/8 + 2n$. Elles

sont caractérisées par une première cellule chlorophyllienne extrêmement globuleuse qui, ultérieurement, peut se diviser, mais qui souvent en reste à ce stade (fig. 3).

Quelle est la cause de ces anomalies ? Nous avons tenté de la déterminer par les quelques essais suivants. Nous avons utilisé une série de milieux à

Fig. 3. — *Germination anormale de Pteris longifolia.*

La première cellule chlorophyllienne est globuleuse.



base de Knop. Dans chacun d'eux, nous avons ajouté un seul sel métallique de la solution de Berthelot : Fe, Ni, Co, Cu, Mn. Nous avons vu que dans tous ces milieux, sauf dans celui renfermant le fer surajouté, les germinations anormales étaient présentes. Nous en avons conclu que le fer joue certainement un rôle important dans le bon déroulement de la germination.

Développement du prothalle. — Nous envisagerons successivement le développement sur les milieux à base de Knop utilisé tel quel, sur les milieux à base de Knop dilué au $1/4$, enfin sur les milieux à base de Knop dilué au $1/8$.



Fig. 4. — *Prothalle de Pteris longifolia âgé de dix-sept jours sur milieu K + n, en lumière du jour.*

a. MILIEUX A BASE DE KNOP NON DILUÉ. — La croissance se révèle différente suivant que les spores se développent sur des milieux renfermant ou non des oligo-éléments. Nous avons suivi, de jour en jour, les étapes de cette croissance, mais nous ne décrirons les aspects des cultures qu'à mesure qu'ils deviennent caractéristiques.

Au bout du dixième jour, le milieu K renferme des formes globuleuses et d'autres qui sont filamenteuses. L'avance que présentent $K + n$ et $K + 2n$ est très nette. S'il existe bien, comme dans le milieu K, des formes filamenteuses à longues cellules, il en existe aussi, terminées par la série de petites cellules, qui précèdent toujours la formation du méristème. Les premières cloisons obliques commencent d'apparaître. La dose d'oligo-éléments de $3n$ provoque un grand retard. L'aspect n'a guère changé depuis le début de la germination. Beaucoup de spores n'ont encore qu'un rhizoïde avec une cellule chlorophyllienne qui pointe à peine.

Au dix-septième jour, les régions méristématiques sont bien formées (fig. 4). Le milieu $K + 2n$ paraît un peu plus favorable que $K + n$. Les cultures sur le milieu $K + 3n$, qui présentaient un retard très net, les premiers jours, rattrapent un peu ce retard. Les spatules se forment souvent

après un stade filamenteux plus réduit et composé de cellules plus courtes que celui observé dans les milieux $K + n$ et $K + 2n$.

Si nous étudions, maintenant, des cultures beaucoup plus âgées, après sept semaines par exemple, nous pouvons constater un très grand polymorphisme. Le milieu K renferme bien des prothalles normaux, mais beaucoup d'autres sont aberrants (fig. 5), en particulier ceux qui proviennent des germinations dont la première cellule chlorophyllienne anormale était globuleuse (voir p. 23).

La proportion de prothalles typiques, plus ou moins échancrés, augmente dans le milieu $K + n$, mais les formes anormales n'y sont cependant pas exceptionnelles. Notons la présence assez fréquente d'anthéridies. Les

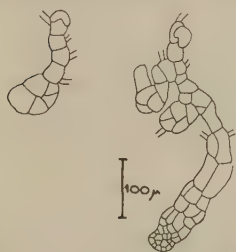


Fig. 5. — Prothalles anormaux de *Pteris longifolia* âgés de sept semaines, sur milieu K , en lumière du jour.

Fig. 6. — *Pteris longifolia*. Milieu $K + 3n$. Nouveaux stades filamenteux issus de cellules marginales.

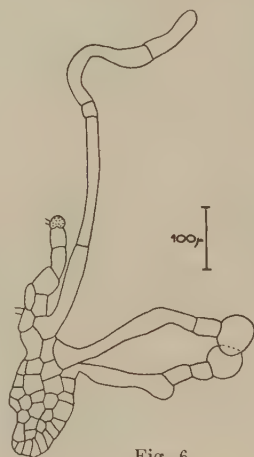


Fig. 6.

prothalles sont normaux dans le milieu $K + 2n$ et portent presque tous des organes mâles.

Quant aux cultures sur $K + 3n$, elles présentent une singularité. Les aspects typiques ne manquent pas, mais, souvent aussi, des spatules formées s'échappent 1, 2, 3 filaments, comme si une ou plusieurs cellules marginales acquéraient les potentialités qui caractérisent la cellule terminale dans le stade filamenteux (fig. 6).

Ces filaments, à leur tour, peuvent donner méristèmes et spatules et contribuer ainsi à la formation de prothalles plus ou moins ramifiés.

Au bout de deux mois et demi, tous les milieux à base de Knop non dilué renferment des prothalles cordiformes ou diversement lobés, porteurs d'anthéridies, ces dernières étant plus nombreuses dans les milieux additionnés d'oligo-éléments que dans le milieu K , le nombre le plus élevé étant atteint pour une dose de $3n$.

b. MILIEUX A BASE DE KNOP DILUÉ AU 1/4. — Les phénomènes observés sont parallèles à ceux décrits pour les milieux à base de Knop non dilué. On constate que le retard des cultures sur le milieu $K \frac{1}{4} + 3n$ est presque complètement rattrapé. La croissance est plus rapide dans le milieu $K \frac{1}{4} + n$ que sur le milieu $K \frac{1}{4}$. Le développement est meilleur encore avec $K \frac{1}{4} + 2n$.

Dans les cultures âgées, le polymorphisme est très grand. Ainsi, dans le milieu $K \frac{1}{4}$, à côté de prothalles normaux porteurs d'anthéridies voisinent des formes globuleuses, filamenteuses ou ramifiées (fig. 7).

La proportion d'anomalies est plus faible avec $K \frac{1}{4} + n$; les prothalles étirés sont nombreux. Elle se réduit encore avec $K \frac{1}{4} + 2n$, où les prothalles sont en général plus grands et de forme plus arrondie.

On retrouve de nouveau, lorsque la dose d'oligo-éléments atteint $3n$, des formes ramifiées comparables à celles décrites pour le milieu $K + 3n$ (fig. 6).

c. MILIEUX A BASE DE KNOP DILUÉ AU $\frac{1}{8}$. — Ce sont les moins favorables de tous ceux que nous venons d'étudier. On remarque encore l'action stimulante des oligo-éléments à la dose de n et $2n$ et l'action retardante sur la germination de la dose $3n$, celle-ci étant particulièrement forte, puisqu'au septième jour très peu de spores ont émis le rhizoïde. Sur ce milieu apparaîtront par la suite, comme nous l'avons déjà mentionné pour les milieux $K + 3n$ et $K \frac{1}{4} + 3n$, des filaments composés de petites cellules.

Les anthéridies apparaissent vers la dixième semaine dans les cultures sur $K \frac{1}{8}$, $K \frac{1}{8} + n$, $K \frac{1}{8} + 2n$. Mais, à cette date, le milieu $K \frac{1}{8} + 3n$ ne renferme encore que de petites spatules.

Dans toute la série des milieux placés en lumière ordinaire, les plantules commencent d'apparaître entre le quatrième et le cinquième mois seulement.

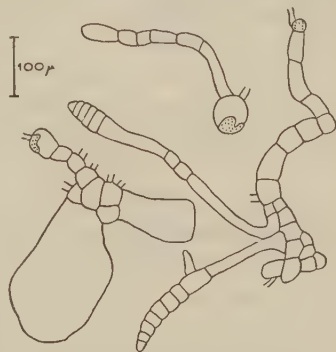


Fig. 7. — *Pteris longifolia*. Prothalles anormaux sur milieu $K \frac{1}{4}$.

Conclusions. — Les expériences que nous venons de décrire permettent de faire un certain nombre de remarques :

a. Sur la germination.

1. Les oligo-éléments en trop forte concentration retardent la germination.

2. La dose d'oligo-éléments retardant la germination est d'autant moins élevée que le milieu est plus dilué. Ce retard, qui existe dans les milieux $K + 3n$ et $K \frac{1}{4} + 3n$, s'observe déjà dans le milieu $K \frac{1}{8} + 2n$.

3. L'addition des oligo-éléments de la solution de Berthelot empêche la formation de cellules anormales globuleuses. Un rôle important est joué par le fer.

4. Pour que les prothalles ne présentent pas de cellules globuleuses, la teneur en oligo-éléments doit être d'autant plus forte que le milieu est plus dilué. Ainsi, on n'observe pas de formes globuleuses avec $K + n$, $K \frac{1}{4} + 2n$ et $K \frac{1}{8} + 3n$.

b. Sur le développement.

1. Le développement est plus rapide dans les milieux les plus concentrés.

2. Les oligo-éléments à forte concentration ($1,5 \text{ cm}^3$ par litre) provoquent un raccourcissement du stade filamenteux.

3. Une trop forte dose d'oligo-éléments ($1,5 \text{ cm}^3$ par litre) entraîne l'apparition de filaments latéraux, à partir des cellules marginales.

4. L'action des oligo-éléments sur la formation des anthéridies paraît très nette. Elles sont, en effet, beaucoup plus nombreuses dans les milieux additionnés de 1 cm^3 ou $1,5 \text{ cm}^3$ de la solution de Berthelot que dans les milieux additionnés de 0,5 ou ceux qui sont dépourvus d'éléments métalliques surajoutés.

Il ressort des expériences que nous venons de décrire que, si chaque facteur joue un rôle important, aucun n'agit indépendamment des autres. Il y a, au contraire, interaction réciproque.

2° Influence de la concentration du milieu de Knop, des oligo-éléments et de la lumière continue. — De nombreux auteurs, BAUKE, GEBEL, PRANTL, PERRIN, etc., ont insisté sur le rôle important joué par la lumière au cours du développement des prothalles de Fougères. Ceci nous a incitée à rechercher quelle serait l'action de la lumière continue.

Mais nous avons pensé qu'il serait peut-être instructif d'étudier son influence, combinée à celle d'autres facteurs dont l'effet nous est déjà connu.

Nous venons de voir que l'aspect des cultures de *P. longifolia*, développées sur le milieu de Knop à différents taux de dilution et dont la richesse en oligo-éléments est variable, s'éloigne beaucoup de ce qu'on peut observer dans la nature. En particulier, le stade filamenteux est très important, les prothalles s'étirent anormalement. Et, de plus, il existe des excroissances produites par des cellules apicales ou marginales (fig. 5, 6, 7).

La lumière continue permettra-t-elle de « normaliser » le développement ou, au contraire, conduira-t-elle à de nombreuses anomalies ? Les faits que nous allons maintenant exposer nous permettront de répondre à ces questions.

Les expériences sont réalisées de la même façon que précédemment, dans des conditions aseptiques et en utilisant les trois séries de milieux à base de Knop non dilué ou dilué au $1/4$ et au $1/8$. La solution de Berthelot est encore ajoutée à la dose de 0,5, 1, $1,5 \text{ cm}^3$ par litre de milieu.

Nous adoptons les mêmes signes conventionnels, K, K $1/4$, K $1/8$, représentant le milieu de Knop à ses différentes concentrations et n , $2 n$, $3 n$, indiquant les doses croissantes d'oligo-éléments.

Les cultures reçoivent la lumière du jour, sans insolation directe, et, de plus, un éclairage continu d'environ 800 lux. Nous suivrons, de très près, les étapes de la germination, puis celles du développement.

Germination. — La germination débute entre le deuxième et le troisième jour dans un certain nombre de milieux. Au troisième jour, les spores semées dans K, K + n , K + $2 n$, K $1/4$, K $1/4$ + n , K $1/4$ + $2 n$, K $1/8$, K $1/8$ + n , K $1/8$ + $2 n$ ont émis le filament chlorophyllien. Par contre, sur les milieux K + $3 n$, et K $1/4$ + $3 n$ seul le rhizoïde est sorti. Le milieu K $1/8$ + $3 n$ ne montre aucune germination.

Les formes anormales globuleuses, déjà mentionnées au cours des expé-

riences en lumière du jour, se retrouvent également en lumière continue, où elles sont encore plus nombreuses. On peut les observer dans les milieux K, K 1/4, K 1/8, K 1/4 + n, K 1/8 + n, et K 1/8 + 2 n.

Développement du prothalle. — Nous envisagerons, successivement, les aspects morphologiques obtenus sur les milieux à base de Knop non dilué ou étendu au 1/4 et au 1/8.

a. MILIEUX A BASE DE KNOP NON DILUÉ. — La croissance se révèle très différente suivant que les spores se développent sur des milieux renfermant ou non des oligo-éléments. Nous décrirons les différentes étapes caractéristiques en mentionnant l'âge des cultures.

Au huitième jour, dans le milieu K, à côté des formes globuleuses anormales décrites précédemment, on peut voir des filaments verts constitués de quelques cellules (fig. 8).

Par contre, la croissance est très active avec K + n et K + 2 n. L'extrémité d'un certain nombre des filaments chlorophylliens comporte de petites cellules (fig. 9, a), prélude à l'apparition des premières cloisons longitudinales et obliques.

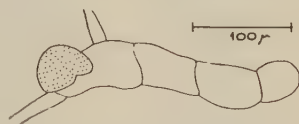


Fig. 8. — *Pteris longifolia*. Prothalles de huit jours, sur milieu K, en lumière continue.

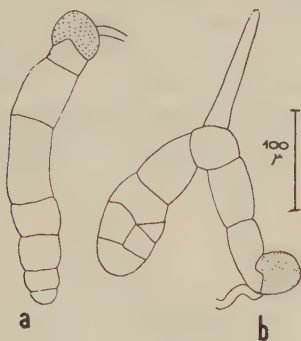


Fig. 9.

Fig. 9. — *Pteris longifolia*.

a, prothalles de huit jours avec file de petites cellules, sur milieu K + n, en lumière continue ;
b, présence des premières cloisons obliques et longitudinales.

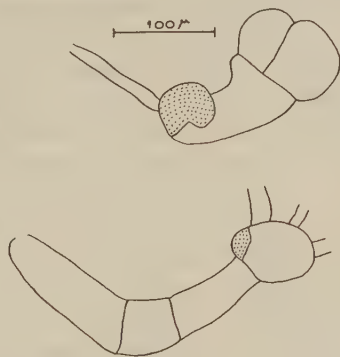


Fig. 10.

Fig. 10. — *Pteris longifolia*. Prothalles anormaux de dix jours, sur milieu K, en lumière continue.

Ces cloisons existent déjà, sur quelques éléments, dans le milieu K + n (fig. 9, b).

La croissance est beaucoup plus lente en ce qui concerne K + 3 n ; les filaments, courts, présentent seulement deux à trois cellules.

Au dixième jour, les différences s'accusent encore. Les cultures, sur milieu K, n'ont guère évolué. Seules quelques formes globuleuses se sont divisées, en donnant un filament de calibre normal ou d'autres cellules renflées (fig. 10).

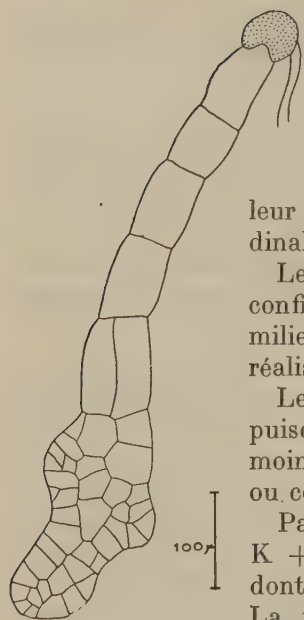


Fig. 11.

Pteris longifolia. Prothalles de dix jours, sur milieu K + n, en lumière continue; spatule bien formée.

Mais ce qui surprend, c'est la rapidité de croissance dans les milieux pourvus d'oligo-éléments. En effet, les cultures sur K + n et K + 2 n présentent déjà des spatules assez grandes (fig. 11). Un autre fait est intéressant : les cultures sur milieux K + 3 n ont rattrapé leur retard primitif, les premières cloisons longitudinales et obliques n'y sont pas rares.

Les observations au dix-septième jour ne font que confirmer l'irrégularité du développement au sein du milieu K et les conditions particulièrement favorables réalisées dans les milieux additionnés d'oligo-éléments.

Les cultures sur milieu K sont très polymorphes puisqu'on observe, en effet, des filaments plus ou moins contournés, d'autres terminés par des spatules ou comportant des cellules renflées (fig. 12, a, b, c, d).

Par contre, les cultures développées sur K + n et K + 2 n montrent seulement de grands prothalles dont certains mêmes sont cordiformes (fig. 13, a, b). La taille des prothalles est plus réduite dans le milieu K + 3 n.

Tandis que, pour le milieu K, la division cellulaire se poursuit toujours d'une manière anarchique, les cultures sur K + n, K + 2 n et K + 3 n offrent bientôt des ébauches d'organes sexuels.

Au trentième jour, anthéridies et archégones sont présents dans les cultures sur K + n et K + 2 n, les anthéridies existent

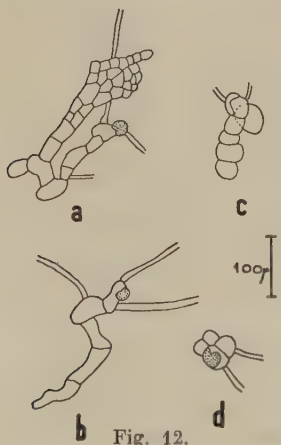


Fig. 12.

Fig. 12. — *Pteris longifolia*. Polymorphisme des prothalles sur milieu K, en lumière continue, après dix-sept jours.



Fig. 13.

Fig. 13. — *Pteris longifolia*. Prothalles de grande taille sur milieu K + n, en lumière continue, après dix-sept jours.

a, forme irrégulière : b, aspect cordé.

seules avec $K + 3n$. Les archégones apparaissent quelques jours plus tard. Entre trente-cinq et quarante jours, les cultures sur $K + n$ et $K + 2n$ se couvrent de plantules.

b. MILIEUX A BASE DE KNOP DILUÉ AU 1/4. — Ces milieux sont moins favorables que les précédents. Mais, jusqu'au dixième jour cependant, il n'y a pas de différences bien tranchées. A partir de ce moment, elles vont s'accroître.

Au dix-septième jour, si l'on fait exception des milieux K et $K 1/4$ où les jeunes gamétophytes évoluent sensiblement de la même façon, les autres milieux montrent des aspects très variés.

Dans le milieu $K 1/4 + n$, certains prothalles ont une taille assez importante (fig. 14, *a*), mais les germinations globuleuses, qui ont continué de croître, donnent des structures curieuses (fig. 14, *b*).

Comme nous l'avons vu lors de l'étude de la germination, le milieu $K 1/4 + 2n$ ne renfermait pas de formes globuleuses.

On n'y trouve donc pas de prothalles aberrants, comme pour le milieu $K 1/4 + n$. On observe, au contraire, de grands prothalles dont certains présentent une petite échancrure.

La présence d'oligo-éléments à la dose de $3n$ retarde, ici encore, le développement, puisque le milieu $K 1/4 + 3n$ ne montre que des méristèmes ou des spatules de taille réduite (fig. 15, *a, b, c*).

De plus, un fait nouveau est à mentionner : il s'agit de la présence d'un court filament partant de l'extrémité de la spatule (fig. 15).

Si l'on continue de suivre le développement, on peut voir qu'au trente-cinquième jour les prothalles normaux des milieux $K 1/4 + n$ et $K 1/4 + 2n$ portent des

anthéridies et des ébauches d'archégones. Mais il n'y a encore aucun organe sexuel sur les cultures en milieu $K 1/4 + 3n$. Il y a donc, par rapport aux milieux à base de Knop non dilué, un retard marqué du développement.

Les plantules apparaissent, évidemment, plus tard. Les premières s'observent entre cinquante et soixante jours dans les milieux $K 1/4 + n$ et $K 1/4 + 2n$, mais sont encore très rares, au bout de soixante-dix jours, dans les cultures faites sur $K 1/4 + 3n$.

Une autre différence à signaler avec les milieux plus concentrés est la suivante. Nous avons vu que les plantules apparaissent massivement,

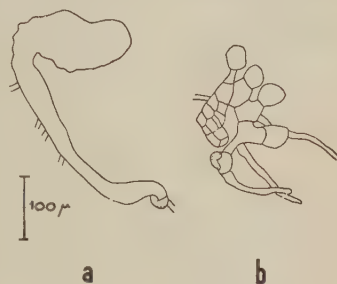


Fig. 14. — *Pteris longifolia*.
a, prothalle de dix-sept jours, d'assez grande taille; *b*, structure atypique. Milieu $K 1/4 + n$, en lumière continue.

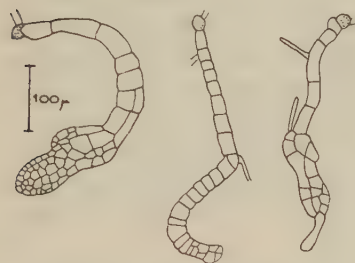


Fig. 15. — *Pteris longifolia*. Différents aspects des prothalles au bout de dix-sept jours. Milieu $K 1/4 + 3n$, en lumière continue.

dans les milieux $K + n$, $K + 2n$ et $K + 2n$. Dans les milieux à base de $K \frac{1}{4}$, leur formation s'échelonne largement dans le temps.

Une dernière observation, sur les cultures âgées de dix semaines, nous permet de constater que :

— de grands prothalles existent dans les milieux $K \frac{1}{4}$, $K \frac{1}{4} + n$, $K \frac{1}{4} + 3n$, le milieu $K \frac{1}{4} + 2n$ ayant déjà donné de nombreuses plantules ;

— le milieu $K \frac{1}{4} + 3n$ présente, de plus, une particularité remarquable. Nous avons vu, précédemment (fig. 15), que les gamétophytes avaient tendance à redonner, à partir de la spatule, un nouveau stade filamenteux. Il existe à ce moment, sur certains d'entre eux, des filaments extrêmement longs, assez larges, non divisés, renfermant quelques chloroplastes et s'échappant de toute la surface du prothalle (fig. 16). On peut observer aussi un nombre plus ou moins grand de cellules marginales en train de s'allonger. Il n'a pas été possible de suivre le développement de ces formes anormales, car toutes les cultures sur les milieux additionnés d'oligo-éléments se nécrosent. Leur aspect devient brunâtre alors que la coloration reste verte dans les milieux K , $K \frac{1}{4}$ et $K \frac{1}{8}$.

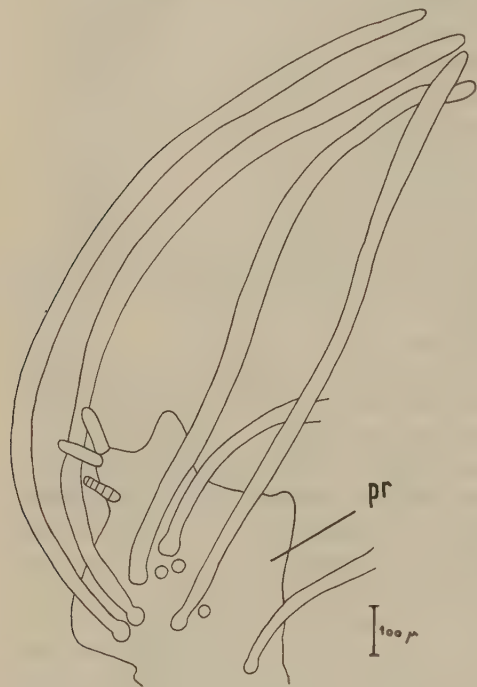


Fig. 16. — *Pteris longifolia*. Structure atypique ; de longs filaments s'échappent de la surface du prothalle (pr). Milieu $K \frac{1}{4} + 3n$; lumière continue.

Si nous voulons rapidement comparer les cultures sur milieux à base de Knop non dilué et

de Knop dilué au $\frac{1}{4}$, nous pouvons remarquer les faits suivants :

— le développement est sensiblement parallèle dans les milieux $K + n$, $K + 2n$ et $K + 3n$, mais, au contraire, il se déroule d'une façon particulière, dans chacun des trois milieux $K \frac{1}{4} + n$, $K \frac{1}{4} + 2n$ et $K \frac{1}{4} + 3n$;

— le développement est comparable, aussi, sur les milieux K et $K \frac{1}{4}$.

c. MILIEUX A BASE DE KNOP DILUÉ AU $\frac{1}{8}$. — Ces milieux se montrent encore bien moins favorables que ceux à base de Knop au $\frac{1}{4}$.

C'est avec $K \frac{1}{8} + 2n$ que l'on obtient les meilleurs résultats. Alors qu'au dix-septième jour il renferme des prothalles de plus ou moins grande taille, les cultures sur $K \frac{1}{8}$ et $K \frac{1}{8} + n$, présentent de très nombreuses

structures anormales (fig. 17). Il n'y a pas de développement dans le milieu $K \frac{1}{8} + 3n$.

Les cultures examinées au trente-cinquième jour confirment l'évolution montrée précédemment. Le milieu $K \frac{1}{8} + 2n$, qui, nous l'avons vu, était le moins défectueux, renferme des prothalles presque normaux. Ils sont aberrants ou quelquefois cordiformes et porteurs d'anthéridies, dans les milieux $K \frac{1}{8}$ et $K \frac{1}{8} + n$ (fig. 18, *a*, *b*). Sur le milieu $K \frac{1}{8} + 3n$ on n'observe toujours aucun développement.

Pour terminer cette étude de la croissance en lumière continue, signalons quelques particularités qui se retrouvent dans toutes les séries de milieux.

1. Les rhizoïdes sont très nombreux et de longueur démesurée. Ceci est peut-être en rapport avec la nécessité d'un apport nutritif accéléré, pour faire face à la croissance très rapide.

2. Les chloroplastes sont, souvent aussi, de très grande taille, deux et trois fois plus que la normale.

3. Les rhizoïdes renferment, quelquefois, un petit nombre de chloroplastes.



Fig.18. — *Pteris longifolia*. Prothalles de trente-cinq jours.

a, cordiforme et porteur d'anthéridies;
b, atypique. Milieu $K \frac{1}{8} + n$; lumière continue.

dans les milieux renfermant des oligo-éléments, son action est contrôlée par la concentration du milieu. La lumière continue agit fortement sur les prothalles maintenus par le Knop non dilué, plus faiblement sur ceux cultivés dans du Knop au $\frac{1}{4}$, plus faiblement encore avec le Knop au $\frac{1}{8}$.

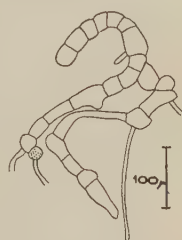


Fig.17. — *Pteris longifolia*. Prothalle aberrant âgé de dix-sept jours. Milieu $K \frac{1}{8} + n$, en lumière continue.

Conclusions. — *a*. Le développement est beaucoup plus rapide en lumière continue qu'en lumière du jour, mis à part le renforcement de l'action inhibitrice des oligo-éléments dans le milieu $K \frac{1}{8} + 3n$.

On peut suivre, dans les milieux particulièrement favorables $K + n$ et $K + 2n$, l'apparition très rapide des différents stades de la morphogénèse de prothalles et on arrive à l'obtention d'une multitude de plantules, au bout de trente-cinq à quarante jours, alors qu'en lumière du jour les premières plantules n'apparaissent qu'entre trois mois et demi et cinq mois, ce qui est aussi la règle dans la nature.

b. Mais, si la lumière continue favorise la croissance, l'apparition des organes sexuels et le développement des plantules

c. L'absence d'oligo-éléments, en lumière continue, entraîne une réduction de la végétation alors que, dans les mêmes conditions, celle-ci est beaucoup moins défavorisée en lumière du jour.

d. La différence de vitesse de croissance, due à la concentration du milieu et à la dose d'oligo-éléments, ne fait que s'accroître en lumière continue. Le contraire se produisait en lumière du jour, où, au bout d'un certain temps, l'aspect des cultures tendait à s'uniformiser dans tous les milieux.

e. La lumière continue provoque assez souvent une augmentation de la taille des cellules et des chloroplastes.

f. La lumière continue favorise l'apparition de rhizoïdes plus nombreux, certains d'entre eux pouvant contenir quelques chloroplastes.

g. En lumière continue, le phénomène de nécrose apparaît au bout de deux mois, dans les milieux renfermant des oligo-éléments, alors que les milieux qui n'en renferment pas : K, K 1/4, K 1/8 gardent des cultures très chlorophylliennes.

h. On retrouve en lumière continue, comme en lumière du jour, l'influence nette des oligo-éléments sur la formation des anthéridies. Celles-ci étant plus nombreuses dans les milieux additionnés de 1 cm³ ou 1,5 cm³ de la solution de Berthelot.

i. Comme pour les milieux placés en lumière du jour, la dose d'oligo-éléments de 1,5 cm³ par litre provoque sur les spatules l'apparition de filaments apicaux et latéraux capables, à leur tour, d'engendrer un nouveau méristème.

j. La lumière continue a exercé une action remarquable sur le développement de *Pteris longifolia*, en particulier sur la vitesse de croissance. Elle n'a cependant pas conduit à la formation de prothalles, dont le stade filamenteux est supprimé ou très réduit, comme il est de règle dans la nature. Nous allons donc poursuivre nos essais afin de déterminer le facteur responsable de la formation, presque d'emblée, d'une lame cellulaire.

3° Action des milieux renfermant, à la fois, des nitrates et un sel d'ammonium. — Au cours de nos expériences précédentes sur le développement de *P. longifolia*, nous avons utilisé la solution de Knop. Nous l'avons modifiée, soit dans sa concentration, soit par l'addition d'une quantité plus ou moins grande d'oligo-éléments. Nous avons étudié, également, l'influence de la lumière.

Les résultats, en lumière du jour, ont été médiocres. Les cultures placées en lumière continue ont conduit, au contraire, à des faits surprenants. Nous avons obtenu dans certains milieux (K + n et K + 2 n) le développement accéléré du prothalle, avec apparition massive de plantules, au bout de trente-cinq à quarante jours.

Mais ces dernières expériences, malgré les résultats acquis, ne peuvent donner entière satisfaction. Le stade filamenteux demeure important, et l'utilisation d'un éclairage ininterrompu éloigne beaucoup trop des conditions naturelles. Quel facteur faudra-t-il donc faire intervenir pour que le

déroulement des phénomènes se reproduise identique à ce qu'on observe dans la nature ?

Nous savons que de nombreuses Fougères habitent les sous-bois, donc des sols riches en humus, où l'activité des bactéries de l'ammonisation, de la nitrosation et de la nitrification est très intense. Les Fougères ont donc à leur disposition toute une gamme de substances azotées.

Or, dans toutes les expériences réalisées jusqu'ici, avec le milieu de Knop, la nutrition azotée n'est assurée que par des nitrates. Nous avons pensé que l'addition de sels d'ammonium, dans cette solution nutritive, aurait peut-être un effet favorable.

Les milieux ont été constitués par une solution de Knop, diluée au 1/8, dans laquelle nous avons ajouté soit du chlorure, soit du sulfate d'ammonium, à des doses telles que la pression osmotique du liquide égale celle du Knop au 1/4. Nous donnons, ci-dessous, leur composition.

a. Knop au 1/8.....	1 000 cm ³
ClNH_4	0,075 g
b. Knop au 1/8.....	1 000 cm ³
$\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$	0,185 g

Les cultures aseptiques ont été faites en boîtes de Pétri et en tubes, et placées en lumière du jour, sans insolation directe (janvier-avril et septembre-décembre) ou maintenues en lumière continue.



Fig. 19.

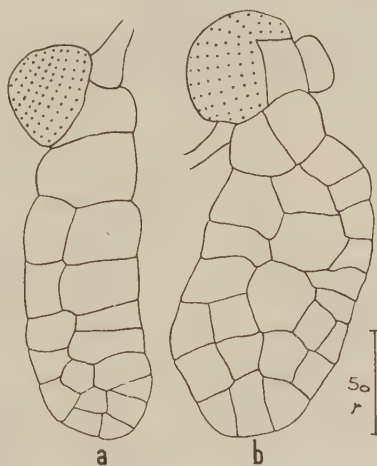


Fig. 20.

Fig. 19. — *Pteris longifolia*. Prothalle de quinze jours formé d'une file de petites cellules. Milieu renfermant du chlorure d'ammonium ; lumière du jour.

Fig. 20. — *Pteris longifolia*. Jeunes spatules.

a, réduction du stade filamenteux ; b, suppression du stade filamenteux. Milieu renfermant du chlorure d'ammonium ; lumière du jour.

1. **Lumière du jour.** — Les spores germent en donnant une série plus ou moins longues de petites cellules (fig. 19). Les premières cloisons longitu-

dinales et obliques ne tardent pas à apparaître, à des niveaux très variables. Les recloisonnements se multiplient et l'on obtient, finalement, de jeunes spatules élargies (fig. 20).

Les premiers stades du développement se déroulent presque toujours

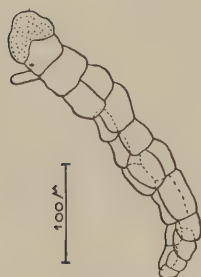


Fig. 21.



Fig. 22.

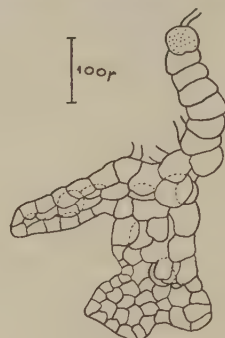


Fig. 23.

Fig. 21. — *Pteris longifolia*. Prothalle montrant des recloisonnements en épaisseur. Milieu renfermant du chlorure d'ammonium; lumière du jour.

Fig. 22. — *Pteris longifolia*. Prothalle immergé montrant le départ de nouveaux stades filamenteux. Milieu renfermant du sulfate d'ammonium; lumière du jour.

Fig. 23. — *Pteris longifolia*. Prothalle développé en surface, présentant une ramification. Milieu renfermant du chlorure d'ammonium; lumière du jour.

ainsi. Il existe, cependant, un autre mode de cloisonnement, qui s'opère non dans un plan horizontal, mais en épaisseur (fig. 24).

Le mode de développement que nous venons de décrire et qui apparaît identique à celui observé dans la nature concerne les spores germées à la surface du liquide.



Fig. 24.

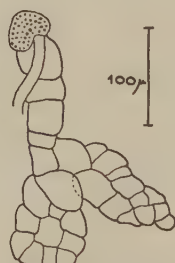


Fig. 25.

Fig. 24. — *Pteris longifolia*. Prothalle massif âgé d'un mois et demi. Milieu renfermant du sulfate d'ammonium; lumière du jour.

Fig. 25. — *Pteris longifolia*. Prothalle immergé âgé d'un mois et demi. Milieu renfermant du sulfate d'ammonium; lumière du jour.

Mais les spores tombées au fond du milieu de culture se comportent autrement. Elles donnent naissance à des prothalles dont la vitesse de croissance est plus lente et où, très souvent, plusieurs cellules marginales s'étirent, produisant un nouveau stade filamenteux (fig. 22). Cette propriété de se ramifier s'observe aussi, mais plus tard, sur de rares prothalles développés en surface (fig. 23).

Dans la grande majorité des cas, on aboutit, finalement, au bout d'un mois et demi, à la formation de prothalles massifs, diversement lobés ou échancrés (fig. 24). Au même moment, les prothalles immergés sont du type représenté par la figure 25.

Les organes reproducteurs se constituent par la suite. Mais ici un phénomène curieux se présente. Les prothalles portent de nombreuses archégones, et quelques-uns, même, sont dépourvus d'anthéridies. Les organes mâles, lorsqu'ils existent, sont toujours assez peu



Fig. 26. — *Pteris longifolia*. Prothalle très allongé. Teneur du milieu en chlorure d'ammonium réduite des $\frac{2}{3}$; lumière du jour.

nombreux. Les plantules commencent d'apparaître après trois mois et demi.

Si nous diminuons la dose de sel d'ammonium (de moitié ou des $\frac{2}{3}$), il existe encore quelques prothalles plus ou moins cordiformes. Mais beaucoup d'autres sont fortement allongés (fig. 26) ou présentent, entre les deux lobes, une expansion en languette (fig. 27). Dans

tous les cas, les anthéridies sont moins nombreuses que les archégones.



Fig. 27. — *Pteris longifolia*. Prothalle avec expansion en languette. Teneur du milieu en chlorure d'ammonium réduite des $\frac{2}{3}$; lumière du jour.
an, anthéridies ; ar, archégones.

2. **Lumière continue.** — La croissance des prothalles en lumière continue est accélérée. Cependant, les structures diffèrent de ce qu'on observe dans

les conditions naturelles. Il n'y a plus, comme pour les cultures placées en simple lumière du jour, raccourcissement ou suppression du stade filamenteux. Au contraire, le filament initial est assez important, formé de cellules allongées, et les spatules s'étirent, au lieu de prendre une forme massive.

L'action de la lumière continue apparaît donc comme antagoniste de l'influence exercée par les sels d'ammonium. En effet, les prothalles ressemblent à ceux développés dans le milieu $K + n$ et soumis à un éclairage

ininterrompu. Autrement dit, tout se passe comme si la solution nutritive ne renfermait que des nitrates. Mais, d'un autre côté, puisque la croissance est plus rapide, les sels d'ammonium paraissent jouer un rôle interchangeable avec les oligo-éléments de la solution de Berthelot.

Il nous faut mentionner, aussi, l'apparition de quelques anomalies. Certains prothalles se ramifient fortement. Plusieurs cellules marginales produisent de nouveaux filaments qui, à leur tour, forment des spatules (fig. 28).

Tous ces faits constituent un exemple de plus de la complexité des phénomènes biologiques et des interactions entre les facteurs morphogénétiques.

Nous avons réalisé d'autres expériences, en utilisant du nitrite d'ammonium. L'aspect des cultures a été, en tout point, comparable à ce que nous venons de décrire. La présence de l'ion NO_2 n'entraîne pas de modifications.

3. **Conclusions.** — Nous pouvons tirer des expériences précédentes les enseignements suivants :

— En lumière du jour.

a. En présence de sels d'ammonium, la première cellule chlorophyllienne, se divise, en donnant une file plus ou moins longue de courtes cellules.

b. La propriété de se recloisonner et de contribuer ainsi à la formation de la spatule appartient à toutes les cellules du filament germinatif, ou au plus grand nombre de ces cellules. Il y a donc, comme dans la nature, suppression totale ou raccourcissement très net du stade filamenteux.

c. Les prothalles ont un aspect plus massif que ceux obtenus sur milieu de Knop.

d. Le développement des gamétophytes, issus des spores tombées au fond des tubes ou des boîtes, est moins rapide, et la tendance à redonner de nouveaux stades filamenteux, très accusée.

e. Les sels d'ammonium favorisent la constitution des archégones. Il se

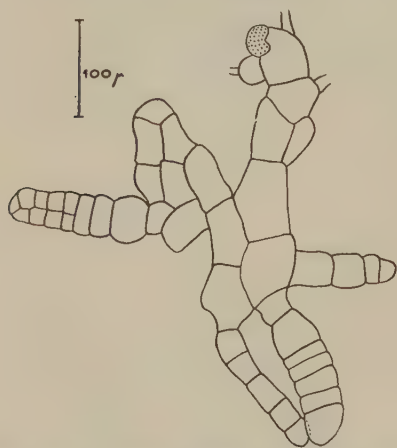


Fig. 28. — *Pteris longifolia*. Prothalle très ramifié. Milieu renfermant du sulfate d'ammonium; lumière continue.

forme quelques prothalles unisexués femelles. Les autres, bisexués, ne portent qu'un petit nombre d'anthéridies.

f. L'addition de sel d'ammonium, en quantité convenable (0,075 g de chlorure ou 0,185 g de sulfate d'ammonium par litre de Knop au 1/8) nous a permis d'obtenir, *in vitro*, le développement normal de *P. longifolia*. Les aspects morphologiques sont comparables à ceux qu'on peut observer dans la nature, à cette différence près que, dans nos expériences, la formation des archégonies est favorisée.

g. Si la quantité de sel d'ammonium ajoutée est réduite de moitié ou des 2/3, une anomalie se manifeste. La région méristématique de l'échancrure donne, très souvent, une expansion en languette.

— En lumière continue.

a. La lumière continue neutralise l'action des sels d'ammonium. Tout se passe comme si le milieu ne contenait que des nitrates.

b. Les sels d'ammonium, en lumière continue, agissent dans le même sens que les oligo-éléments, en permettant une croissance plus rapide.

c. La lumière continue provoque l'apparition d'anomalies. Il existe quelques prothalles ramifiés.

4° Action des milieux dont la source d'azote est représentée uniquement par un sel d'ammonium. — Le développement de *P. longifolia*, sur des milieux contenant des nitrates, comme unique source de substances azotées, ne se rapproche pas de celui observé dans la nature. Mais on obtient la succession normale des étapes de la morphogenèse, lorsqu'on ajoute, dans des proportions convenables, ainsi que nous venons de le voir, du chlorure, du sulfate ou du nitrite d'ammonium.

La question se pose, maintenant, de savoir si les sels d'ammonium, qui exercent une heureuse influence sur la morphogenèse des prothalles, lorsqu'ils sont associés aux nitrates, peuvent, à eux seuls, fournir une source d'azote valable et permettre la formation de structures typiques.

Le chlorure et le sulfate d'ammonium s'étant comportés sensiblement de même, nous décrirons les expériences réalisées avec deux milieux, l'un à base de sulfate d'ammonium, l'autre de nitrite d'ammonium.

La composition de ces milieux est la suivante :

$\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$	1 g	NO_2NH_4	0,48 g
$\text{SO}_4\text{Mg}, 7 \text{H}_2\text{O}$	0,25 g	$\text{SO}_4\text{Mg}, 7 \text{H}_2\text{O}$	0,25 g
$\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$	0,25 g	$\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$	0,25 g
Cl_2Ca	0,12 g	Cl_2Ca	0,12 g

Une première série de boîtes et de tubes renferme ces solutions telles quelles ; dans une seconde série, nous ajoutons les oligo-éléments à la dose de 0,5 cm³ de solution de Berthelot par litre de milieu.

1. Milieu au sulfate d'ammonium. — En lumière ordinaire (septembre-décembre et avril-juillet), le comportement des prothalles est le même, que la solution renferme ou non les oligo-éléments de la solution de Berthelot.

Après un stade filamenteux réduit, la région méristématique se constitue et l'on obtient, finalement, un prothalle cordiforme typique. La formation des archégones est favorisée, comme nous l'avions déjà vue, lorsque le milieu de Knop, dilué au 1/8, est enrichi suffisamment en sel d'ammonium (voir plus haut). Les plantules apparaissent entre quatre et cinq mois.

Les cultures maintenues en lumière continue réagissent différemment. Au début, la vitesse de croissance est accélérée aussi bien dans la solution

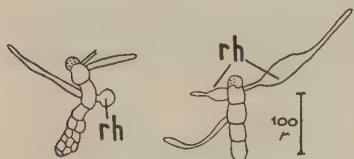


Fig. 29. — *Pteris longifolia*. Début de croissance sur milieu à base de nitrite d'ammonium et en lumière du jour.

Plusieurs rhizoïdes (rh) sont anormaux.

non additionnée d'oligo-éléments que dans celle qui en est pourvue. Le stade filamenteux est court. Les prothalles prennent une forme massive. Ils sont quelquefois ramifiés. Un fait retient l'attention, c'est la forme des rhizoïdes. Ils sont très élargis, renflés en amphore ou arrondis. Leur contenu est plus ou moins coloré en jaune brun (fig. 29). Les anthéridies apparaissent, quelquefois, très tôt. Le développement, en lumière continue, ne va pas plus loin. Les cultures se nécrosent. L'association sel d'ammonium-lumière continue est néfaste, et ici la présence des oligo-éléments ne corrige pas l'effet toxique de l'éclairement ininterrompu, comme c'était le cas pour le milieu de Knop.

2° Milieu au nitrite d'ammonium. — Le milieu au nitrite d'ammonium, additionné ou non d'oligo-éléments, se montre très vite défavorable.

En lumière ordinaire, après un court stade filamenteux, on voit se former

Fig. 30. — *Pteris longifolia*. Début de croissance sur milieu à base de nitrite d'ammonium; lumière du jour.



une région méristématique. Mais le développement, qui paraissait bien engagé, s'arrête à ce stade, puis les cultures se nécrosent (fig. 30).

Les résultats sont encore moins heureux en lumière continue. Et, dans ce cas, la présence des oligo-éléments ne fait qu'augmenter la toxicité du milieu.

Un dernier caractère à signaler est la forme anormale des rhizoïdes qui sont diversement renflés et brunâtres.

3. Autres sels d'ammonium. — Nous avons effectué quelques expériences avec le phosphate et le nitrate d'ammonium.

Le premier sel se montre toxique. Le second se comporte d'une façon qui

peut sembler paradoxale. Bien que composé de deux ions favorables au développement de *P. longifolia*, il ne conduit pas à une croissance typique. Les aspects obtenus sont similaires à ceux que donne le milieu de Knop. Tout se passe comme si l'action de l'ion NO_3 l'emportait sur celle de l'ion NH_4 .

Nous pouvons conclure de cette étude que *P. longifolia* peut s'accommoder de certains sels d'ammonium, mais que cette source d'azote, à elle seule, ne représente pas les conditions optima de culture.

5° Mode de formation du prothalle chez *Pteris longifolia*. — Nous avons vu, précédemment, qu'il est possible d'obtenir *in vitro* le développement normal de *P. longifolia*. Il suffit d'ensemencer les spores dans une solution nutritive renfermant comme source d'azote à la fois des nitrates et un sel d'ammonium. Il nous a semblé intéressant de suivre de près les différentes étapes de la formation du prothalle.

Nous savons que le premier stade du développement des prothalles consiste, après l'éclatement de la spore et l'émission de la cellule chlorophyllienne, dans la formation d'un filament pluricellulaire. Le point à établir, tout d'abord, est de savoir comment se fait l'allongement. Deux mécanismes sont, en effet, possibles. Ou bien les divisions transversales se produisent uniquement dans la cellule terminale, ou bien, alors, toutes les cellules sont susceptibles de participer à l'élongation du filament.

Afin de trancher la question, nous avons fixé les jeunes prothalles, à l'alcool-acétique et effectué des colorations au carmin de Belling. Celles-ci nous ont montré que les mitoses ont toujours lieu dans la dernière cellule du filament. L'accroissement en longueur est donc terminal et non, à la fois, terminal et intercalaire.

Le stade suivant de la morphogenèse est caractérisé par la formation de cloisons obliques et longitudinales. A ce propos, BURCK dit que, chez les Polypodiacées, les divisions longitudinales et obliques n'intéressent que la partie distale du filament, les premières cellules proches de la spore restant indivises. Il oppose ce comportement à celui de plusieurs espèces d'*Aneimia* (Cyathéacées) où le filament entier participe à la formation d'une lame cellulaire.

Ce point de vue n'est pas celui de BAUKE. Cet auteur précise que, chez les Polypodiacées, les divisions longitudinales s'effectuent dans plusieurs cellules du filament, mais, ajoute-t-il, toujours après qu'une première paroi est apparue dans la cellule terminale. En ce qui concerne les *Aneimia*, il affirme que les cellules les plus proches de la spore se divisent en même temps ou quelquefois plus tôt que les cellules distales.

L'observation du prothalle de *P. longifolia* nous permet d'apporter quelques précisions. Il apparaît, tout d'abord, que l'emplacement de la première cloison n'est pas soumis à une règle fixe.



Fig. 31. — *Pteris longifolia*. La première paroi longitudinale apparaît dans l'avant-dernière cellule du filament.

Elle peut se produire, en effet, dans l'avant-dernière cellule du filament (fig. 31), dans une cellule située à un niveau quelconque, ou dans le cas

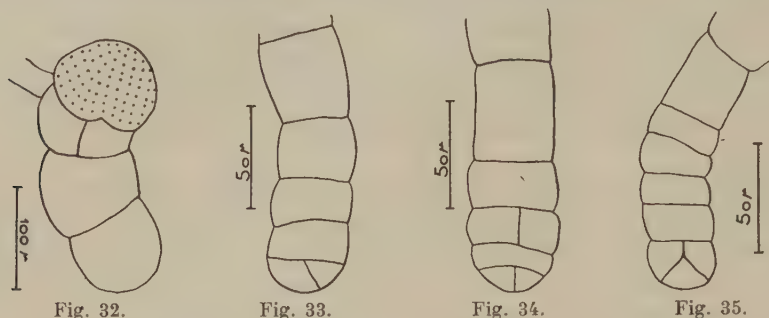


Fig. 32. — *Pteris longifolia*. Recloisonnement de la cellule à demi incluse dans la spore.

Fig. 33. — *Pteris longifolia*. Recloisonnement de la dernière cellule du filament.

Fig. 34. — *Pteris longifolia*. Recloisonnement dans deux cellules non contiguës.

Fig. 35. — *Pteris longifolia*. Les deux premiers recloisonnements délimitent une cellule apicale triangulaire.

des lames cellulaires formées très précocement, elle peut intéresser la cellule en partie incluse dans la spore (fig. 32). Elle apparaît, enfin, quelquefois, dans la dernière cellule du filament (fig. 33).

Si nous comparons le comportement de *P. longifolia* à celui des *Aneimia* décrit par BURCK et BAUKE, nous voyons qu'il n'y a pas de différences essentielles. On voit, en effet, que tout le filament, dans certains cas, peut participer à la formation d'une lame cellulaire (fig. 20, b) et que les premières cloisons peuvent intervenir dans les cellules proches de la spore aussi bien que dans celles qui en sont les plus éloignées.

L'emplacement des cloisons suivantes ne suit pas un ordre plus rigoureux. Elles se produisent dans des cellules contiguës ou non (fig. 34), ou dans la cellule terminale, concourant ainsi à délimiter la cellule apicale triangulaire (fig. 35).

Il existe quelques cas particuliers. Ainsi, sur la figure 36, le second recloisonnement de la cellule terminale se produira tardivement, après que les cellules supérieures se soient redivisées. La figure 37 montre que de nombreux recloisonnements ont eu lieu, alors que la cellule terminale persiste.

Mais le fait essentiel du développement de *P. longifolia* est la formation plus ou moins précoce dans la cellule terminale d'une apicale triangulaire délimitée par deux cloisons obliques (fig. 35).

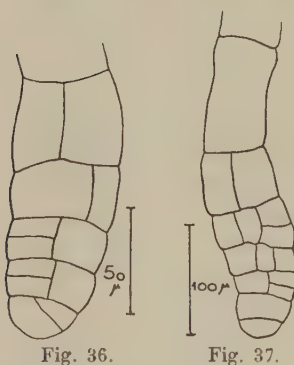


Fig. 36. — *Pteris longifolia*. La cellule apicale n'est pas délimitée alors que de nombreux cloisonnements se sont déjà produits.

Fig. 37. — *Pteris longifolia*. Longue persistance de la cellule terminale du filament germinatif.

L'accroissement du prothalle dépend, ensuite, du fonctionnement de la cellule apicale et du recloisonnement actif des cellules qui en dérivent. La spatule formée finit par s'échancrer. A ce moment, l'apicale est souvent remplacée par un groupe d'initiales (fig. 38). Le prothalle, devenu cordiforme, s'épaissit selon une ligne médiane et, dans cette région qui est le coussinet, les organes reproducteurs vont se différencier.

En terminant l'étude de la formation du prothalle chez *P. longifolia*, nous pouvons dégager trois faits principaux :

1. L'accroissement du filament germinatif est uniquement terminal.

2. Les premières cloisons obliques et longitudinales apparaissent à des niveaux variables.

3. Le développement ultérieur du prothalle dépend du fonctionnement d'une cellule apicale triangulaire dans la cellule extrême du filament germinatif.

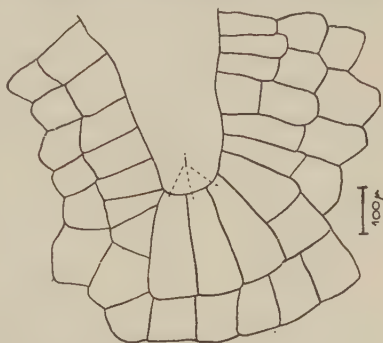


Fig. 38. — *Pteris longifolia*. Zone de l'échancrure avec trois initiales (i).

II. — *Acrostichum aureum*.

Les cultures ont été réalisées sur les milieux nutritifs déjà employés pour *P. longifolia*. Les résultats auxquels nous aboutissons sont très instructifs.

1^o Influence de la concentration du milieu de Knop et des oligo-éléments. — Les milieux à base de Knop et additionnés de quantités plus ou moins importantes d'éléments métalliques de la solution de Berthelot ont été désignés par des signes conventionnels et groupés en un tableau (voir p. 22). Les expériences ont été réalisées en lumière du jour et en lumière continue.

1. Lumière du jour. — Le développement d'*A. aureum*, en lumière ordinaire (février-juin) et sur la série des douze milieux employés, s'arrête après la constitution d'un filament composé de quelques cellules. Cette espèce se trouve donc dans des conditions culturales particulièrement inadaptées à ses besoins.

Elles sont, en effet, très éloignées de l'écologie de la plante. *A. aureum* est une Fougère de la mangrove africaine, et son développement a lieu en climat équatorial. La température y est donc élevée, et les jours sont pratiquement d'égale longueur, quelle que soit la saison.

2. **Lumière continue.** — L'utilisation d'un éclairage continu entraîne de grands changements, bien que les solutions nutritives utilisées soient les mêmes que précédemment.

On constate que le développement d'*A. aureum* ne s'arrête pas après la formation d'un court filament. Les aspects morphologiques sont cependant variables, suivant le milieu au sein duquel s'effectue la croissance.

Comme nous l'avons déjà noté dans nos expériences réalisées sur *P. longifolia* (voir p. 21 et 26), les milieux qui conviennent le mieux sont, ici encore, $K + n$ et $K + 2n$. On assiste à un phénomène d'accélération dans la succession des étapes de la morphogenèse. Les figures 39, a, b, c et 40 représentent des prothalles à différents stades de leur croissance. Une comparaison rapide avec les formes décrites

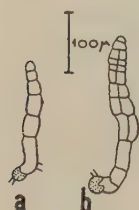


Fig. 39.

Fig. 39. — *Acrostichum aureum*.
a, b, c, aspects successifs d'un jeune prothalle.



Fig. 40.

Fig. 40. — *Acrostichum aureum*. Prothalle arrivé au terme de sa croissance.

chez *P. longifolia* (fig. 2, 11, 13, b) permet de voir que le mode de formation du gamétophyte chez *A. aureum* se déroule suivant une voie très différente. Nous étudierons prochainement les différentes phases.

Un net retard se manifeste, par contre, dans le milieu $K + 3n$. Il en est de même lorsque le milieu de Knop n'est pas enrichi en oligo-éléments. Il n'y a pas, toutefois, production d'anomalies.

Si nous considérons les milieux plus dilués, nous pouvons faire un certain nombre de remarques. Tout d'abord, les formes anormales sont très nombreuses dans les milieux suivants : $K \frac{1}{4}$, $K \frac{1}{4} + n$, $K \frac{1}{4} + 2n$, $K \frac{1}{8}$, $K \frac{1}{8} + n$, $K \frac{1}{8} + 2n$. On y rencontre, à côté de courts filaments, des prothalles très ramifiés (fig. 41). Le développement est insignifiant dans le milieu $K \frac{1}{8} + 3n$ et les structures y sont atypiques.

Mais nous pouvons constater que la croissance est très satisfaisante dans le milieu $K \frac{1}{4} + 3n$. Ceci constitue un nouvel exemple des interactions entre les différents facteurs. Les éléments métalliques de la solution de Berthelot, lorsque celle-ci est ajoutée à la dose de $1,5 \text{ cm}^3$ par litre de Knop au $\frac{1}{4}$, combattent l'effet nocif de la dilution du milieu et permettent, en lumière continue, un développement accéléré du prothalle.

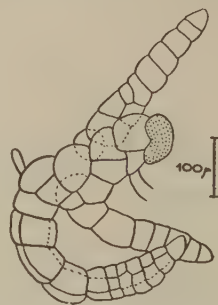


Fig. 41. — *Acrostichum aureum*. Prothalle très ramifié. Milieu $K \frac{1}{4} + n$; lumière continue.

3. **Conclusions.** — Les conclusions qui s'imposent sont comparables à celles que nous avons tirées des expériences similaires réalisées avec *P. longifolia* :

— influence accélératrice de la lumière continue sur le développement du prothalle ;

— action favorable des milieux les plus concentrés ;

— nécessité d'une teneur plus élevée en oligo-éléments lorsque le milieu est plus dilué, à cette différence près que la teneur optimum en oligo-éléments, pour *A. aureum*, dans le milieu K 1/4, doit être de 1,5 cm³/l, alors qu'elle est seulement de 1 cm³/l, dans le cas de *P. longifolia* ;

— action inhibitrice des doses les plus fortes d'éléments métalliques (1,5 cm³ de la solution de Berthelot par litre de milieu), lorsque le Knop est dilué au 1/8 ;

— limitation de l'action de la lumière continue par la dilution du milieu ou la teneur en oligo-éléments.

2° Action de milieux renfermant, à la fois, des nitrates et un sel d'ammonium. — Nous avons employé des solutions nutritives constituées par du Knop au 1/8 auxquelles nous avons ajouté soit 0,075 g de chlorure d'ammonium, soit 0,185 g de sulfate d'ammonium, la pression osmotique étant, alors, celle du Knop au 1/4.

Les essais en lumière ordinaire ont été aussi infructueux que dans le cas précédent, où nous avons ensemencé les spores d'*A. aureum* sur milieu de Knop modifié dans sa concentration et enrichi de quantités variables d'oligo-éléments. Le développement s'arrête après formation de courts filaments ou de quelques structures anormales (fig. 42).

Par contre, si les cultures sont maintenues en lumière continue, le développement des prothalles s'effectue rapidement.

3° Action des milieux dont la source d'azote est représentée uniquement par un sel d'ammonium. — Les milieux utilisés sont à base de sulfate ou de nitrate d'ammonium (voir p. 33). Ils sont employés tels quels ou enrichis en oligo-éléments (0,5 cm³ de la solution de Berthelot par litre de milieu).

Comme nous pouvions le présager, si nous nous reportons aux expériences déjà décrites ci-dessus, *A. aureum* ne se développe pas, sur ces milieux, en lumière ordinaire. Mais lorsque les cultures reçoivent un éclaircissement continu, la croissance devient très active. Le comportement des prothalles diffère un peu d'un milieu à l'autre.

Quand la source azotée est représentée par du sulfate d'ammonium, que le milieu soit additionné ou non d'oligo-éléments, les prothalles sont de très grande taille. Souvent, même, ils se ramifient pour donner de véritables colonies prothalliennes. Ils portent des organes sexuels et donnent des plantules.

Dans le milieu renfermant du nitrite d'ammonium et utilisé sans modification, les gamétophytes sont également très grands. Mais, lorsqu'on lui

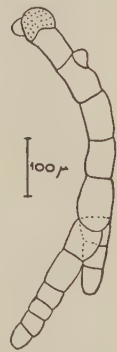


Fig. 42.
Acrostichum aureum. Prothalle atypique. Milieu renfermant du chlorure d'ammonium ; lumière du jour.

ajoute des oligo-éléments, on constate que la présence de ces derniers entraîne une réduction de la taille des prothalles ainsi qu'une tendance marquée des cellules marginales ou des cellules quelconques de la surface,

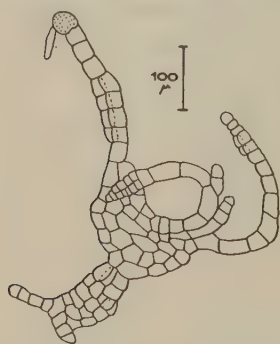


Fig. 43. — *Acrostichum aureum*. Prothalle très ramifié. Milieu à base de nitrite d'ammonium et additionné d'oligo-éléments; lumière continue.

à donner des excroissances (fig. 43). Dans l'un et l'autre cas, les organes sexuels arrivent à se constituer, mais la nécrose des cultures se produit avant que des plantules ne soient apparues.

Nous mentionnerons, pour terminer, que l'action des oligo-éléments, dans ces deux milieux à base de sulfate ou de nitrite d'ammonium, se manifeste par la coloration vert très foncé des prothalles.

Si nous comparons le comportement de *P. longifolia* et d'*A. aureum*, vis-à-vis des sels d'ammonium, nous voyons qu'*A. aureum* peut facilement utiliser cette source d'azote. *P. longifolia*, par contre, se montre déjà beaucoup plus exigeante puisque le nitrite d'ammonium exerce sur elle une action toxique.

4° Mode de formation du prothalle d'*Acrostichum aureum*. — Étapes de la morphogénèse. — Nous avons dit, en comparant les prothalles d'*A. aureum* et de *P. longifolia*, qu'une nette différence se manifeste dans les aspects morphologiques de ces deux espèces.

Nous décrirons la succession des étapes du développement d'*A. aureum* et nous établirons quelles sont les divergences avec *P. longifolia*.

Nous ferons remarquer, cependant, que nous n'avons jamais vu de prothalles dans leur milieu naturel. Nous ne pouvons donc savoir quelle est la forme absolument normale. Mais il est permis de penser, puisque nous obtenons la constitution de prothalles échancrés, à stade filamenteux réduit, porteurs d'organes sexuels et de plantules vigoureuses, que nous avons affaire à des structures au moins très voisines de celles que nous observerions sur les prothalles développés dans la mangrove.

Toutes les formes que nous allons décrire ont été observées dans les cultures placées sur milieu K + n, en lumière continue.

La germination des spores d'*A. aureum* aboutit, comme chez toutes les

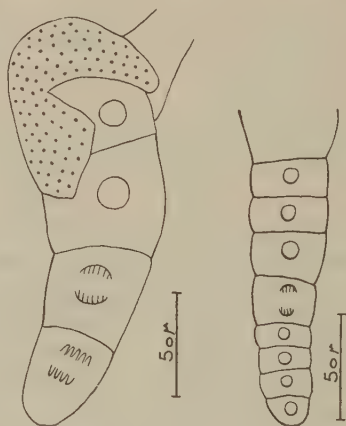


Fig. 44.

Fig. 44. — *Acrostichum aureum*. Divisions transversales dans deux cellules du filament germinatif.

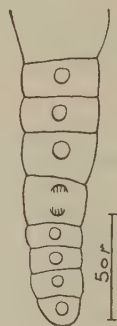


Fig. 45.

Fig. 45. — *Acrostichum aureum*. Division transversale dans une cellule quelconque du filament.

Polypodiacées, à la formation d'un filament de longueur variable. Recherchons quel est le mécanisme de l'allongement. Des colorations au carmin ferrique, après fixation des jeunes prothalles dans l'alcool-acétique, permettent d'observer l'emplacement des noyaux en mitose.

La figure 44 nous montre deux divisions en cours, dans les cellules terminale et subterminale, et dont le plan de recloisonnement est transversal. Il est fréquent de rencontrer des divisions semblables dans une cellule quelconque du filament (fig. 45).

Nous pouvons donc conclure, sans attendre davantage, que l'élongation du filament résulte, chez *A. aureum*, d'un mode de division à la fois terminal et intercalaire. Ce fait constitue une différence avec le comportement de *P. longifolia*.

Le stade suivant est caractérisé par des cloisonnements répétés des

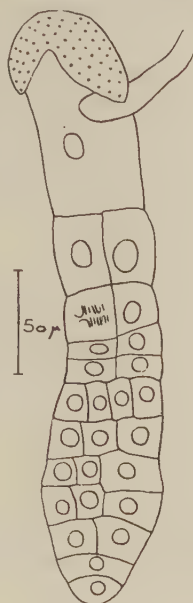


Fig. 46.

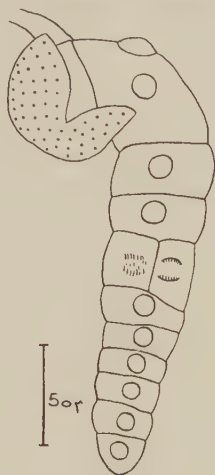


Fig. 47.

Fig. 46. — *Acrostichum aureum*. Aspect d'une jeune spatule après recloisonnements multiples.

Fig. 47. — *Acrostichum aureum*. Recloisonnements transversaux dans la cellule intéressée par la première division longitudinale.

cellules du filament. La première paroi longitudinale peut apparaître à un niveau variable : dans la cellule subterminale, ou dans une cellule quelconque de la file.

Ces nouvelles divisions peuvent donner à la spatule l'aspect représenté sur la figure 46. Dans certains cas, des recloisonnements transversaux, intéressant les cellules issues de la première division longitudinale, s'effectuent avant la constitution d'une deuxième cloison longitudinale (fig. 47).

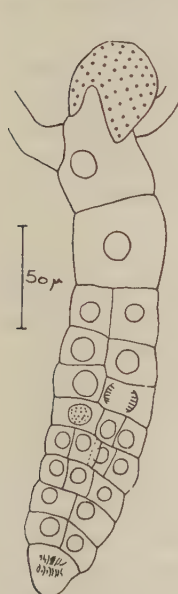


Fig. 48.

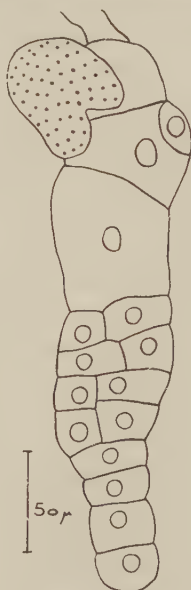


Fig. 49.

Fig. 48. — *Acrostichum aureum*. Division transversale dans la cellule extrême d'une jeune spatule.

Fig. 49. — *Acrostichum aureum*. Retard des recloisonnements longitudinaux sur les divisions transversales.

Mais le fait essentiel qui s'impose à notre attention est le suivant. Dans l'immense majorité des cas, aucune cloison oblique ou longitudinale, ne vient découper la cellule terminale. Bien au contraire, nous voyons celle-ci continuer à se diviser transversalement, alors que la spatule est déjà importante (fig. 48). Il arrive même qu'un « stade filamenteux » prolonge la spatule, montrant un retard net des cloisonnements longitudinaux sur les divisions transversales (fig. 49).

Lorsque les divisions se sont poursuivies un certain temps, les prothalles ont un aspect caractéristique. A la spore, fait suite ce qui a persisté du stade filamenteux initial. Puis, on remarque une zone centrale élargie, enfin une portion terminale plus ou moins allongée, à l'extrémité de laquelle on reconnaît, sans peine, la cellule qui correspond à la cellule terminale du filament primitif (fig. 50).



Fig. 50.

Fig. 50. — *Acrostichum aureum*. Spatule élargie dans sa partie médiane.



Fig. 51.

Fig. 51. — *Acrostichum aureum*. Spatule avec boursofflure sur l'un de ses côtés.

La partie médiane élargie présente, bientôt, sur un seul côté, une boursofflure formée de cellules de taille réduite. Les dimensions plus restreintes de ces cellules indiquent que cette région doit être le siège d'une intense activité mitotique, l'élongation des cellules situées sur la partie effilée du prothalle indiquant, au contraire, un net ralentissement ou peut-être même un arrêt total des divisions jusque-là très rapides (fig. 51).

A mesure que la croissance se poursuit, l'importance du renflement latéral s'accroît, en même temps que la partie effilée s'estompe plus ou moins. La cellule terminale, vestige du stade filamenteux initial, reste reconnaissable dans un

très grand nombre de cas. Mais, l'entrée en activité de la zone méristématique latérale entraîne la perte de son pouvoir de recloisonnement transversal. Cette cellule cesse d'être fonctionnelle et, à ce moment-là, forme quelquefois un assez long rhizoïde.

Le prothalle, arrivé au stade sexué, se présente sous forme d'une grande lame verte asymétrique. La partie extrême de la jeune spatule initiale, comprenant l'ex-cellule terminale et le groupe des cellules sous-jacentes, est fortement déjetée sur le côté, non loin de la spore, et persiste comme une sorte d'appendice (fig. 40 et 52). L'échancrure est généralement peu accusée. Le coussinet, très long, se trouve toujours sur le côté opposé à celui de l'ex-cellule initiale. Il est situé marginalement ou, dans des cas rares, est plus ou moins médian. Il porte les organes reproducteurs.

Le développement d'*A. aureum* apparaît donc très différent de celui de *P. longifolia* où la constitution du prothalle dépend du fonctionnement d'une cellule apicale, différenciée dans la cellule terminale du filament germinatif.

Ici, la morphogenèse se déroule en deux phases. Dans la première, la cellule terminale, par ses recloisonnements transversaux qui se continuent après que les cellules intermédiaires ont commencé de se diviser par des cellules longitudinales, obliques ou transversales, contribue à la formation d'une jeune spatule.

Puis, dans un deuxième temps, cette cellule cesse de fonctionner et le développement est alors assuré par un groupe important d'initiales, différenciées sur la partie latérale renflée du gamétophyte. Il n'y a donc jamais production de la cellule apicale triangulaire décrite classiquement.

Il existe encore un autre mode de formation du prothalle, et celui-ci fait transition entre les deux types que nous venons d'étudier. Il a été vu par GEBEL, chez *Asplenium nidus* L., et par PERRIN, chez *Asplenium trichomanes* L.

Dans ces deux espèces, lorsque le filament est constitué, des recloisonnements qui respectent les premières cellules proches de la spore, ainsi que la cellule terminale, produisent une expansion latérale. Puis, dans une cellule marginale quelconque de cette expansion, une cellule triangulaire se différencie et fonctionne comme une apicale (fig. 53).

La comparaison de ces trois modes de développement nous amène aux conclusions suivantes :

1. La cellule terminale du filament donne naissance, chez *P. longi-*

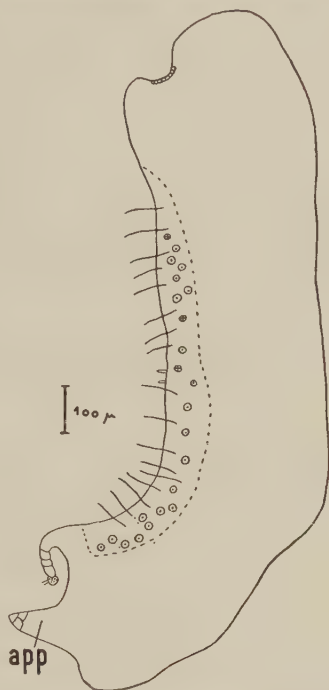


Fig. 52. — *Acrostichum aureum*. Prothalle adulte avec coussinet latéral.

app, appendice comprenant l'excellule terminale.



Fig. 53. — *Asplenium Trichomanes*. L'apicale (a) est située dans l'expansion latérale. (D'après PERRIN.)

folia, à une cellule apicale triangulaire. Ceci est conforme au cas généralement décrit.

2. Il n'existe pas d'apicale différenciée dans la cellule terminale, chez les *Asplenium* et *A. aureum*.

3. Cependant, le prothalle des *Asplenium* possède une cellule apicale

triangulaire, comme dans le cas habituel; mais celle-ci se constitue à partir d'une cellule marginale quelconque.

4. Il ne se produit pas de cellule apicale typique chez *A. aureum*. Dans cette espèce, lorsque la cellule terminale cesse de fonctionner, le développement ultérieur du prothalle est assuré par un groupe d'initiales, situé sur l'un des côtés de la spatule.

La constitution du prothalle d'*A. aureum* suit donc une voie très particulière et qui n'avait encore jamais été signalée. Mais, ce qui en fait l'intérêt n'est pas uniquement sa nouveauté. C'est aussi la ressemblance frappante qu'il présente avec le développement de certaines algues, nous introduisant, par là, au cœur même de problèmes phylogénétiques.

Considérations phylogénétiques. — Les premiers stades du développement d'*A. aureum* nous paraissent comparables à ceux d'une algue



Fig. 54. — *Polysiphonia fastigiata*. Développement de la jeune plante. (D'après SAUVAGEAU.)

rouge : *Polysiphonia fastigiata* dont l'étude a été faite par SAUVAGEAU. Cette algue ne présente aucune différence morphologique entre la génération à n et celle à $2n$ chromosomes.

Examinons le schéma donné par SAUVAGEAU sur la croissance initiale (fig. 54). Nous voyons, tout d'abord, la jeune plante se diviser transversalement. La première paroi longitudinale apparaît ensuite à un niveau quelconque. Puis, des recloisonnements successifs concourent à la formation d'une spatule. Mais, en même temps que cette dernière s'élargit, on peut observer que la cellule terminale continue de se diviser transversalement. Aucune paroi, oblique ou longitudinale, ne vient la découper. La similitude entre les premiers stades du développement chez *A. aureum* et *Polysiphonia fastigiata* est donc frappante.

Le rapprochement entre les Filicinées et les Algues est fait depuis longtemps. Selon les anciens auteurs, les Filicinées descendraient des Algues. THOMAS pense même que le prothalle des *Schizea* serait très voisin, par sa structure morphologique, de l'ancêtre algal.

MORTE établit un autre point de comparaison. Il étudie l'ontogenèse des anthéridies sur des prothalles anormaux, filamenteux et uni-sexués. Ces prothalles n'ont pas été déterminés, mais, selon l'auteur, il s'agit d'une Polypodiacée. MORTE observe que les organes mâles présentent toutes les transitions entre le type gamétocyste où la cellule spermatogène n'est pas recouverte d'éléments stériles et le type gamétange où la couche cellulaire protectrice stérile est toujours réalisée. Il pense que cette dérivation du gamétange des Polypodiacées, à partir d'un gamé-

tocyste de type algal, est un argument en faveur de l'hypothèse qui fait descendre les Polypodiacées des Chlorophycées.

Nous concluons simplement en disant que l'opinion des anciens auteurs sur l'origine algale des Ptéridophytes nous semble renforcée par les quelques exemples que nous venons de donner.

III. — *Dryopteris setigera*.

Nous nous proposons d'étudier, maintenant, le comportement de *D. setigera* sur les milieux minéraux déjà utilisés pour *P. longifolia* et *A. aureum*. Les résultats obtenus diffèrent profondément de ceux décrits pour ces deux dernières espèces. Mentionnons que, dans la nature, les aspects morphologiques réalisés sont en tout point comparables à ceux observés chez *P. longifolia* (fig. 2).

1° Influence de la concentration du milieu de Knop et des oligo-éléments. — **Lumière du jour.** — En lumière du jour (septembre-janvier), que le milieu de Knop soit utilisé tel quel, dilué au 1/4 ou au 1/8, les différences dans les vitesses de germination et de croissance ne sont pas considérables. Il y a toujours formation de filaments très longs, atteignant quelquefois 1 cm ou plus et composés de cellules de grande taille. Des spatules peu nombreuses apparaissent au bout d'un mois et demi. Elles sont anormales, très étirées. Leur nombre est plus important dans les milieux concentrés, il diminue à mesure qu'ils deviennent plus dilués. La présence des oligo-éléments n'apporte aucun changement notable. Signalons que, dans les milieux K 1/8, K 1/8 + n, K 1/8 + 2 n, K 1/8 + 3 n, parmi les quelques spatules formées, certaines sont parfois prolongées par un filament issu d'une cellule marginale.

Lumière continue. — Le développement en lumière continue est très différent. Tout d'abord, la germination, dans les milieux les plus fortement pourvus d'oligo-éléments, est retardée. Ce retard se manifeste dans les milieux K + 3 n, K 1/4 + 3 n, il est déjà très intense avec K 1/8 + 2 n.

Mais, à la différence de *P. longifolia* et d'*A. aureum*, les prothalles de *D. setigera* ne vont pas s'accommoder d'un éclairage continu et, dans tous les milieux, sans exception, ils prennent des aspects anormaux. Les filaments sont plus larges qu'en lumière ordinaire et renferment de plus gros chloroplastes. Ils sont ramifiés et contournés. Certaines cellules sont bour-

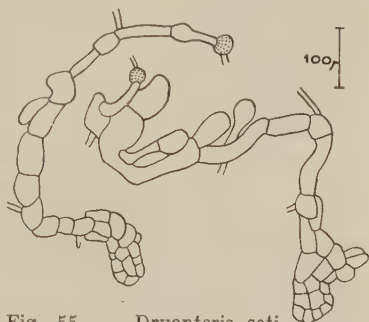


Fig. 55. — *Dryopteris setigera*. Prothalles anormaux. Milieu K + n; lumière continue.

soufflées. Des spatules, plus ou moins anormales, arrivent à se constituer (fig. 55). Mais les cultures croissent d'une façon désordonnée. Ce fait montre que la lumière continue n'est pas favorable au développement de *D. setigera*, aussi bien dans les solutions renfermant des oligo-éléments que dans celles qui n'en ont pas été enrichies. Ceci est très différent de ce que nous avons observé chez *P. longifolia*, où la présence des éléments métalliques de la solution de Berthelot, en quantité judicieuse, corrigeait l'effet nocif de la lumière continue.

2° Influence des milieux renfermant, à la fois, des nitrates et un sel d'ammonium. — Nous avons cherché à améliorer le développement de *D. setigera*, en utilisant des milieux dont la source d'azote n'est pas constituée uniquement par des nitrates. Connaissant l'action favorable des sels d'ammonium sur la morphogenèse de *P. longifolia*, il était nécessaire de voir si cette influence se manifesterait aussi sur *D. setigera*. Quels sont les résultats obtenus ?

Lumière ordinaire. — Lorsque les cultures sont placées en lumière ordinaire (janvier-avril), on peut constater un certain progrès. Le stade filamenteux est moins important que sur milieu de Knop et il est constitué par des cellules plus courtes. La formation des spatules elles-mêmes est un peu facilitée. Mais le développement est loin de ressembler à ce qu'on observe dans les conditions naturelles. Signalons, enfin, qu'avec des doses de plus en plus faibles de sels d'ammonium, la proportion des formes filamenteuses très longues va en s'accroissant.

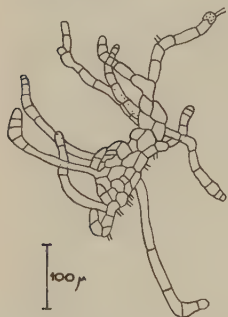


Fig. 56. — *Dryopteris setigera*. Prothalle ramifié. Plusieurs cellules marginales ont donné un nouveau stade filamenteux. Milieu renfermant du sulfate d'ammonium ; lumière continue.

Lumière continue. — Si les mêmes expériences sont reprises en lumière continue, mais avec un éclairage moins intense que celui utilisé pour *P. longifolia* (éclairage d'appoint de 600 lux), les résultats sont améliorés. Les formes longuement filamenteuses sont encore en nombre important, mais de grandes spatules ou des prothalles plus ou moins réguliers arrivent à se constituer.

Lorsque la dose des sels d'ammonium est diminuée, les formes filamenteuses deviennent nettement prédominantes, bien que l'on puisse encore observer quelques grands prothalles. Il existe aussi des prothalles extrêmement ramifiés, les cellules marginales ayant donné naissance à de nombreux filaments (fig. 56).

Les cultures de *D. setigera*, en lumière continue, finissent par se nécroser, elles prennent une coloration brune. Il n'est donc pas possible d'obtenir des plantules.

3^o Influence des milieux dont la source d'azote est représentée uniquement par un sel d'ammonium. — Les milieux à base de sulfate d'ammonium ou de nitrite d'ammonium, en lumière du jour, ne donnent que des stades filamenteux, puis les jeunes prothalles dégénèrent.



Fig. 57. — *Dryopteris setigera*. Les cellules du filament germinatif sont courtes. Milieu à base de nitrite d'ammonium; lumière continue.

En lumière continue, les premières cellules formées sont courtes, mais les cultures se nécrosent presque aussitôt (fig. 57).

4^o Conclusions. — Il ressort de toutes ces expériences que le développement de *D. setigera* ne peut s'effectuer sur les milieux minéraux que nous avons utilisés. Ceci constitue une nette différence avec *P. longifolia* et *A. aureum*. En effet, par une combinaison appropriée de plusieurs facteurs, on obtenait, pour ces deux espèces, le déroulement normal de la morphogenèse. On peut penser que *D. setigera* exige des conditions de culture plus complexes. Nous les étudierons ultérieurement.

Nous ne décrivons pas le mode de formation du prothalle de *D. setigera*. L'étude de son développement dans les conditions naturelles montre qu'il est identique à celui de *P. longifolia*. Il est donc inutile de nous y arrêter.

CHAPITRE II

INFLUENCE DE QUELQUES FACTEURS BIOLOGIQUES SUR LE DÉVELOPPEMENT DES PROTHALLES

Nous savons que dans la nature les prothalles se développent suivant des règles fixes et ne présentent pas toutes les anomalies de structure que nous avons rencontrées au cours de nos expériences. D'où provient cette influence régulatrice ?

Il semble, au premier abord, qu'il soit très difficile de le déterminer. En effet, le sol est un milieu extrêmement complexe où se déroule une activité biologique intense : transformation perpétuelle des matières organiques ou minérales, concurrence interspécifique, sécrétions des micro-organismes. Dans ces conditions, comment mettre en évidence les facteurs qui influent sur la morphogenèse des prothalles ? Le problème est ardu, nous avons pensé qu'il fallait essayer sinon de le résoudre entièrement, au moins d'arriver à un peu de clarté. Nous avons, dans ce sens, tenté un certain nombre d'expériences afin de déterminer le rôle susceptible d'être joué par la microflore du sol, sur le développement des prothalles.

Nous avons effectué quelques essais sur extrait de terre stérilisé dans le but de connaître si un milieu liquide aseptique, préparé à partir du milieu « sol », peut conduire, malgré l'absence de germes vivants, au développement normal des gamétophytes des espèces que nous étudions.

Nous avons réalisé d'autres expériences avec des micro-organismes isolés par la méthode des grains de terre de WINOGRADSKY, en particulier un champignon cellulolytique, diverses bactéries non identifiées. Un autre champignon, non isolé du sol, mais que l'on peut y rencontrer, *Alternaria humicola*, a été aussi l'objet de nos investigations.

A. — Généralités sur le rôle des micro-organismes.

Avant d'exposer les résultats obtenus, nous donnerons un aperçu des connaissances actuelles sur l'influence des micro-organismes du sol.

Cette influence, à priori, doit être très importante et, spécialement, lorsqu'ils appartiennent à la rhizosphère.

Des exemples d'interactions entre la microflore du sol et les Végétaux supérieurs sont connus depuis longtemps.

On peut citer, en particulier, celui des bactéries de l'ammonisation, de la nitrosation et de la nitratisation. Par leur activité, elles enrichissent le

sol en azote assimilable et permettent, ainsi, un meilleur développement des plantes supérieures.

Nous pouvons ouvrir une parenthèse et faire un rapprochement avec ce que nous connaissons du développement de *P. longifolia*. Nous avons vu que les meilleures solutions nutritives, pour cette espèce, sont celles qui renferment des nitrates et un sel d'ammonium (chlorure ou sulfate) ou des nitrates et du nitrite d'ammonium. Un tel fait peut légitimement nous conduire à penser que, dans la nature, *P. longifolia* bénéficie de l'activité de ces trois sortes de bactéries du cycle de l'azote.

On connaît encore d'autres aspects du rôle des micro-organismes. On sait que beaucoup d'entre eux synthétisent des substances de croissance. Les premières observations sont anciennes. En effet, SALKOWSKI (E. et M.) décrivent en 1880, puis en 1885, la formation d'acide indole-acétique au cours de la décomposition des protéines par des cultures de bactéries.

Ce corps apparaît dans des cultures d'*Escherichia coli* sur milieu renfermant du tryptophane [HOPKINS et COLE (1903)].

De même, HERTER et TEN BROEK (1909) trouvent l'acide indole-acétique dans des cultures de *Proteus vulgaris* ensemencé sur peptone et extrait de viande.

FRIEDER (1921), expérimentant avec des cultures de bactéries productrices d'indole, remarque qu'elles fabriquent l'acide indole-acétique à partir du tryptophane, lorsque la source de carbone est représentée par un sucre. Mais les bactéries indole-négatives seraient capables, elles aussi, de transformer le tryptophane en acide indole-acétique.

De nombreuses espèces de bactéries développées au sein de milieux renfermant de la peptone donnent des substances actives sur l'Avoine [BOYSEN-JANSEN (1932)].

En 1936, BROWN et GARDNER mettent en évidence la formation d'une hormone par *B. tumefaciens*.

Les nodules des racines contenant *Rhizobium leguminosarum* constituent des centres de formation de substances de croissance [THIMANN (1936)]. CHEN (1938) mentionne le même fait pour d'autres espèces de bactéries, rencontrées dans des nodules de racines. Plusieurs espèces de *Rhizobium* ainsi que *B. radiobacter* sont capables d'élaborer des substances spéciales qui provoquent la courbure de l'Avoine, lorsqu'elles se développent dans des milieux renfermant du tryptophane. Si ce corps est absent, rien ne se produit [GEORGI et BEGUIN (1939)].

BURKHOLDER (1939) réalise quelques essais sur *Escherichia coli* et *Aerobacter aerogenes*. Il constate que ces deux espèces produisent des composés actifs à partir de dix-sept acides aminés. *A. aerogenes* possède aussi la faculté d'en former, lorsque la source d'azote est constituée uniquement par du nitrate de potassium ou du chlorure d'ammonium.

Non seulement les bactéries, mais les champignons sont, eux aussi, capables de donner des substances actives. THIMANN (1935) montre que la quantité d'acide indole-acétique formée par *Rhizopus suinus*, cultivé sur peptone, dépend de la dose de tryptophane présente et du degré d'aération.

L'acide indole-acétique prendrait naissance par désamination oxydative du tryptophane, ainsi que l'ont établi WENT et THIMANN en 1937.

Aspergillus niger produit des substances actives à partir des acides aminés suivants : histidine, lysine, leucine, tyrosine, phényl-alanine, tryptophane, mais non à partir de la glycine, alanine, asparagine, cystine, proline ou argine [BOYSEN-JANSEN (1932)].

La diversité des milieux employés suggère l'idée que des substances très variées, à propriétés physiologiques identiques à celles des auxines, sont synthétisées par les micro-organismes. Non seulement le tryptophane, facilement transformé en acide indole-acétique ou en acide indole-propionique [GILMANN (1930)], mais d'autres acides aminés seraient la source de substances actives. Il est probable aussi que certains de ces composés peuvent être synthétisés à partir d'une source d'azote minéral.

BOTTOMLEY (1920) observe que les bactéries fixatrices d'azote peuvent élaborer, à partir d'hydrates de carbone et d'azote élémentaire, des substances stimulant la croissance des nodules.

Selon WILLIAMS et SPIES (1938), les auxines et les vitamines produites par les micro-organismes, dans la nature, jouent certainement un rôle considérable dans la croissance des plantes supérieures.

L'existence d'interactions entre les micro-organismes du sol et les prothalles de Fougères nous paraît ressortir des travaux de M^{me} HUREL-PY.

Cet auteur s'est aperçu que des colonies prothalliennes développées en milieu aseptique, transplantées ensuite sur un mélange de terreau et de terre de Bruyère, humidifié et stérilisé une heure et demie à 120°, reprennent difficilement. Le moindre traumatisme rend encore plus aléatoire un nouveau départ de la croissance. La terre stérilisée est donc défavorable au développement des prothalles. M^{me} HUREL-PY pensa d'abord que la stérilisation avait transformé certains constituants en substances toxiques diffusibles. D'autres essais l'amènèrent à modifier son opinion. En effet, des prothalles cultivés sur extrait aqueux concentré de terre stérilisée, solidifié par la gélose à 1,2 p. 100, se développent d'une façon satisfaisante. M^{me} HUREL-PY suggère alors que « la quantité d'eau libre différente dans la terre et dans un milieu gélosé, de même que le défaut d'homogénéité du premier substrat qui ne permet sans doute pas une irrigation suffisante des prothalles, doit jouer un rôle important dans les différents comportements observés ».

Cette explication ne nous paraît pas satisfaisante. Des substances toxiques existent peut-être dans la terre stérilisée, mais n'ont pas diffusé dans l'eau, d'autre part l'adjonction de gélose modifie les conditions d'expérience. Cette substance, à l'inverse des silico-gels par exemple, n'est pas inerte. Elle renferme un certain nombre de corps qui peuvent être utilisés par les prothalles.

M^{me} HUREL-PY donne encore les précisions suivantes. Lorsque les colonies arrivent à végéter sur terre stérilisée, elles poussent lentement, ne donnent presque jamais de sporophytes, se nécrosent dans le centre, tandis que la partie périphérique continue à se développer. Elles dépérissent

souvent au bout de plusieurs mois, sans cause visible. Lorsqu'elles subsistent, elles finissent par prendre le type filamenteux et se couvrent d'anthéridies.

La terre non stérilisée ne se montre guère plus favorable pour des colonies habituées à l'asepsie, car elles ne savent pas résister à l'envahissement par les moisissures et les bactéries. Cependant, lorsque la végétation reprend, on assiste à des phénomènes intéressants. M^{me} HUREL-PY montre, en effet, que, sur du terreau non aseptique de racines de Polypodes, les colonies continuent de croître. Mais, fait qui mérite d'être noté, les prothalles perdent l'aspect de colonies hémisphériques pour reprendre l'aspect ordinaire qu'ils présentent dans les conditions naturelles. Ceci est évidemment très éloigné de ce qu'on observait sur terre stérilisée où les prothalles devenaient filamenteux, indiquant par là des conditions de milieu défectueuses.

Un cas très particulier de l'interaction entre le prothalle de Fougères et un organisme inférieur est fourni par les observations déjà anciennes de METTENIUS, d'ATKINSON, de LANG, de JEFFREY et de CAMPBELL. Ces

Fig. 58. — *Ophioglossum pendulum*. Pénétration du Champignon à partir d'un rhizoïde. (D'après LANG.)

Fig. 59. — *Ophioglossum pendulum*. Structure ressemblant à des oogones. (D'après CAMPBELL.)



Fig. 58.



Fig. 59.

auteurs ont montré qu'un endophyte est toujours présent chez les Ophioglossacées. Il en existe un aussi chez plusieurs espèces de *Gleichenia*, ainsi que dans le prothalle de *Kaulfussia æsculifolia* (Marattiacées). En ce qui concerne les *Ophioglossum*, où le phénomène a été le plus étudié, il est démontré qu'en l'absence de mycorrhizes le développement s'arrête après la formation de quelques cellules. Rappelons qu'un phénomène identique est connu, depuis longtemps aussi (GÆBEL), pour les prothalles de Lycopodes. CAMPBELL émet cette opinion que des recherches en vue de découvrir des endophytes montreraient peut-être que le phénomène est beaucoup plus commun qu'on ne le pense. Les figures 58-59 montrent les aspects pris par le Champignon à l'intérieur des cellules : hyphes, renflements vésiculeux, petits corps arrondis.

B. — Travaux personnels.

Les exemples que nous venons de citer sont en faveur du rôle joué par la microflore du sol sur le développement des plantes supérieures. Voyons, à présent, quels sont les résultats de nos investigations.

1^o Extrait de terre.

Les expériences que nous avons précédemment décrites et qui avaient été réalisées sur milieux exclusivement minéraux nous ont montré que les

espèces sont très diversement sensibles aux facteurs environnants. On peut alors se poser la question de savoir comment vont réagir, sur extrait de terre, les trois espèces que nous étudions plus particulièrement : *Pteris longifolia*, *Dryopteris setigera* et *Acrostichum aureum*. Leur comportement sera-t-il identique ou montrera-t-il des différences ?

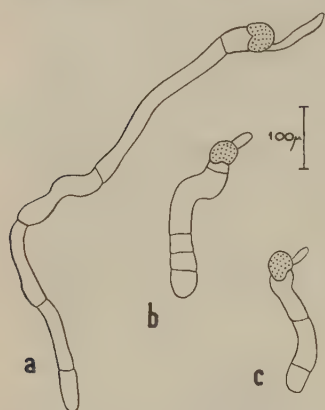


Fig. 60. — Germinations sur extrait de terre.

a, *Dryopteris setigera* ; b, *Pteris longifolia* ; c, *Acrostichum aureum*.

La germination se produit dans tous les cas. Il se forme un filament composé de quelques cellules (fig. 60, a, b, c). Le développement ultérieur présente quelques divergences. *Pteris longifolia* et *Acrostichum aureum* demeurent à ce tout jeune stade, mais *Dryopteris setigera* continue de croître sous forme de filaments grêles très longs, renfermant peu de chloroplastes.

Il apparaît donc que :

1. L'extrait de terre non seulement ne renferme aucun facteur capable d'agir sur la morphogenèse du prothalle, mais est, au contraire, très toxique.
2. Cette toxicité serait légèrement plus faible à l'égard de *Dryopteris setigera* que pour les deux autres espèces.
3. Des substances toxiques sont capables de diffuser en milieu aqueux. Une analyse biochimique permettrait d'en déterminer la nature.

2^o Action des micro-organismes.

En rapportant les essais de M^{me} HUREL-PY, nous avons vu que la terre stérilisée est un milieu défavorable. Il est logique de penser qu'au cours de la stérilisation un certain nombre de substances organiques sont détruites ou transformées par la chaleur et que les produits de désintégration peuvent être nocifs.

Mais, en plus de ce phénomène, la terre stérilisée est privée de toutes les espèces mycéliennes et bactériennes qu'elle renfermait. Or celles-ci exercent peut-être, dans les conditions naturelles, une influence favorable sur le développement du gamétophyte.

Pour démontrer ce rôle possible des micro-organismes sur la morphogenèse des prothalles de Fougères, nous en avons isolé un certain nombre et recherché leur action sur le déroulement de la croissance. L'isolement a été obtenu par ensemencement de grains de terre sur plaques de silico-gel imprégnées des milieux sélectifs de WINOGRADSKY.

I. — ACTION D'UN CHAMPIGNON CELLULOLYTIQUE.

Dans les conditions naturelles, les prothalles poussent souvent sur des sols où, de toute évidence, la décomposition des matières cellulosiques est intense. Il en est ainsi, par exemple, pour les espèces qui se développent dans les sous-bois. L'idée nous est alors venue de rechercher si les micro-organismes qui interviennent dans ce processus et qui doivent être, dans ces conditions, particulièrement nombreux et actifs, ne seraient pas susceptibles d'influer, *in vitro*, sur la morphogenèse des prothalles.

L'isolement a été pratiqué selon la technique de WINOGRADSKY. Nous avons utilisé des plaques de silico-gel imprégnées d'une solution mère exclusivement minérale, dont la composition a été donnée plus haut (p. 7). Comme unique source de matière organique, nous avons déposé, à intervalles réguliers, à la surface du gel, des petits carrés de 1 cm de côté, découpés dans un tissu de lin. Sur chacun de ces carrés, nous avons déposé un grain de terre. Différents micro-organismes, souvent intensément colorés, se développent, mais leur croissance est assez lente. Nous les avons obtenus en culture pure par repiquages successifs.

Le micro-organisme cellulolytique que nous avons plus spécialement étudié est un Champignon de pigmentation noire. C'est un Champignon imparfait qui n'a pu être déterminé. Afin de mettre en évidence son rôle possible sur la morphogenèse des prothalles, nous avons procédé de la façon suivante : nous avons utilisé des tubes de culture renfermant une solution de Knop. Nous introduisons dans chacun d'eux un carré de lin fortement attaqué, qui se dépose sur le fond. Nous avons ensuite ensemencé dans ces mêmes tubes des spores de différentes espèces. Les conditions de culture ainsi réalisées sont très particulières, puisqu'elles entraînent la croissance en commun de prothalles de Fougères et d'un organisme mycélien. Que va-t-il se produire ? Une influence morphogénétique du Champignon se dessinera-t-elle ? Les deux végétaux se développeront-ils en s'ignorant ? Les faits que nous avons observés vont nous permettre de répondre à ces questions.

1. *Dryopteris setigera*. — Nous avons vu que *D. setigera*, en lumière ordinaire et sur milieu de Knop, additionné ou non d'oligo-éléments, produit toujours de très longues formes filamenteuses et que certaines d'entre elles, seulement, après avoir constitué des spatules fortement étirées, donnent un prothalle plus ou moins anormal.

Nous avons recherché si le comportement de *D. setigera* serait modifié par



Fig. 61. *Dryopteris setigera*. Culture témoin sur milieu de Knop. Prothalle filamenteux.

la présence du Champignon cellulolytique dans ce même milieu. Il en a bien été ainsi, comme nous allons pouvoir nous en rendre compte.

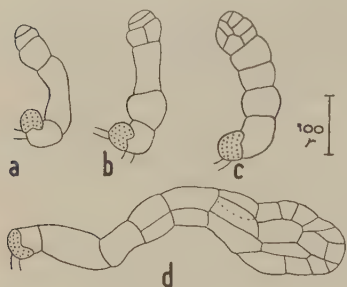


Fig. 62. — *Dryopteris setigera*. Différentes étapes de la croissance sur milieu de Knop en présence du Champignon cellulolytique.

Les tubes témoins renferment des prothalles filamenteux, composés de cellules très allongées (fig. 61). Mais il n'en est plus de même dans les tubes renfermant le Champignon. Le filament initial est formé de cellules beaucoup plus courtes (fig. 62, a, b, c, d).

Les premières divisions longitudinales et obliques apparaissent rapidement et conduisent à la formation d'une spatule normale. Celle-ci s'élargit et s'échancre (fig. 63), et on obtient finalement des prothalles cordiformes porteurs d'organes sexuels.

La conclusion qui s'impose est que le Champignon cellulolytique a permis, dans le milieu de Knop, le développement normal de *D. setigera*. C'est donc qu'il a été capable d'enrichir ce milieu d'un ou de plusieurs facteurs qui lui font défaut et en l'absence desquels cette espèce ne peut constituer un prothalle typique.

2. *Pteris longifolia*. — Cette espèce, ainsi que nous l'avons déjà décrit, présente, sur milieu de Knop et en lumière ordinaire, un développement défectueux, avec stade filamenteux souvent assez long et prothalles cordiformes plus ou moins étirés.

Pour obtenir des structures identiques à celles qu'on observe dans la nature, c'est-à-dire avec stade filamenteux réduit et formes massives, nous avons établi que la solution nutritive doit renfermer, à la fois, des nitrates et un sel d'ammonium (voir p. 32).

On peut se demander s'il n'existe pas d'autres moyens d'atteindre ce résultat. Nous venons de voir, en effet, que le Champignon cellulolytique, introduit dans le milieu de Knop, permet le développement de *D. setigera*.

Si nous recommençons les mêmes expériences avec *P. longifolia*, nous nous apercevons que les étapes de la morphogenèse sont comparables à celles qu'on peut suivre dans la nature. Il y a réduction du stade filamenteux, formation de prothalles massifs, et les plantules apparaissent dans les délais normaux.

Ainsi, que le milieu de culture renferme des nitrates et un sel d'ammonium ou des nitrates et le Champignon cellulolytique, nous obtenons le



Fig. 63. — *Dryopteris setigera*. Prothalle cordiforme. Croissance sur milieu de Knop et en présence du Champignon cellulolytique.

développement normal de *P. longifolia*. Deux voies très différentes aboutissent donc au même résultat.

Les expériences réalisées avec le Champignon cellulolytique apportent encore un fait intéressant. Il concerne les prothalles issus des spores tombées au fond des tubes. Les auteurs ont montré que la vitesse de croissance des prothalles immergés est plus lente et que les aspects sont anormaux. Nous avons nous-même constaté ce phénomène, avec une particulière netteté dans des cultures sur milieux renfermant des nitrates et un sel d'ammonium. Les prothalles développés sous la couche liquide ont tendance à se ramifier, à redonner de nouveaux stades filamenteux (fig. 22), ce phénomène étant dû, sans doute, aux conditions d'anaérobiose, ainsi réalisées.

Il n'en est pas de même pour les prothalles qui croissent au fond du tube, au contact du tissu attaqué. Ils sont, pour la plupart, de même taille et de même force que ceux dont le développement s'effectue à la surface. Le Champignon exerce donc une très forte influence morphogénétique.

Qu'arrive-t-il si les cultures sont placées en lumière continue ? Les prothalles gardent le même aspect qu'en lumière du jour. Mais la vitesse de croissance est accélérée. Les plantules formées sont extrêmement vigoureuses. Elles grandissent jusqu'au sommet des tubes. Dans aucune autre condition expérimentale, nous n'avons obtenu des sporophytes aussi bien développés.

3. *Acrostichum aureum*. — Nous avons vu qu'*Acrostichum aureum* se comporte d'une façon curieuse. En culture aseptique et en lumière ordinaire, cette espèce ne dépasse pas le stade filamenteux quels que soient les milieux minéraux utilisés.

On peut se demander si le Champignon cellulolytique sera capable d'exercer une action telle que le développement, en lumière ordinaire, pourra se poursuivre au-delà du stade filamenteux, jusqu'à la formation d'un prothalle. Autrement dit, pourra-t-il provoquer le déclenchement des divisions longitudinales et se substituer à la lumière continue ? Les résultats obtenus avec *D. setigera* et *P. longifolia* permettent d'espérer découvrir, ici encore, une influence morphogénétique nette. Voyons ce que les faits nous enseignent.

Les spores germent en donnant un long stade filamenteux. Il se forme ensuite une spatule étroite qui s'accroît souvent démesurément. Elle se renfle, déjetant sur le côté la protubérance formée de la cellule terminale

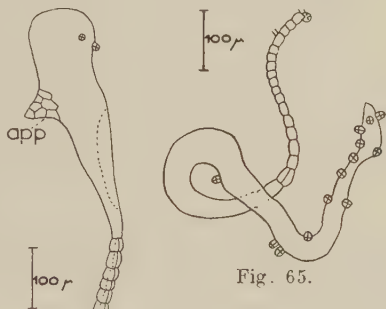


Fig. 64. — *Acrostichum aureum*. Prothalle étiré (app), vestige de l'extrémité de la spatule qui a cessé de se diviser. Milieu de Knop et Champignon cellulolytique.

Fig. 65. — *Acrostichum aureum*. Prothalle « en languette ». Milieu de Knop et Champignon cellulolytique.

et des cellules sous-jacentes, derniers restes de l'extrémité qui a cessé de se diviser. Si nous nous reportons à la figure 64, nous voyons, en effet, cet appendice situé non loin de l'extrémité du prothalle, alors qu'en lumière continue et dans le milieu $K + n$ il se trouve toujours proche de la spore

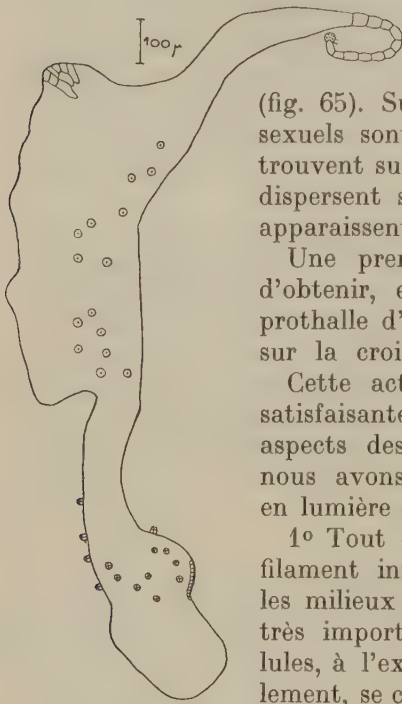


Fig. 66. — *Acrostichum aureum*. Prothalle étiré, porteur d'organes sexuels. Développement sur milieu de Knop, en présence du Champignon cellulolytique.

(fig. 52). Quelquefois même, sur ces prothalles « en languettes », il n'est pas possible de reconnaître qu'elle était la cellule mère de la spatule

(fig. 65). Sur les prothalles plus âgés, les organes sexuels sont présents (fig. 66). Les archégones se trouvent sur le coussinet marginal, les anthéridies se dispersent sur toute la surface du gamétophyte ou apparaissent aussi sur les bords.

Une première conclusion s'impose. Nous venons d'obtenir, en lumière ordinaire, la constitution du prothalle d'*A. aureum*. L'influence du Champignon sur la croissance est donc très réelle.

Cette action, cependant, n'est pas absolument satisfaisante. Examinons attentivement quelques aspects des cultures et comparons-les à ceux que nous avons observés dans le milieu $K + n$ placé en lumière continue.

1° Tout d'abord, en présence du Champignon, le filament initial est très long. Il est vrai que, dans les milieux $K + n$, ce stade peut être, au début, très important. Mais, par la suite, toutes les cellules, à l'exception des deux ou trois premières seulement, se cloisonnent et contribuent à la formation de la spatule, ce qui n'est jamais le cas lors de la végétation en commun du prothalle d'*A. aureum* et du Champignon.

2° De même, en présence de l'organisme mycélien, la spatule s'étire fortement avant de s'élargir, et l'expansion latérale formée est peu importante. Nous avons vu qu'il en est tout autrement lorsque les cultures se développent dans le milieu $K + n$, en lumière continue.

3° Une conséquence de l'élongation de la spatule est que la protubérance formée par l'ex-cellule et les cellules sous-jacentes se trouve déjetée non loin de l'extrémité du prothalle. Quand l'élargissement est rapide et important, elle est, au contraire, située au voisinage de la spore (fig. 51).

4° Quand le Champignon est présent, les anthéridies apparaissent très tôt, soit sur le filament lui-même, soit sur la spatule, même si sa taille est encore très réduite (fig. 63).

5° Nous n'avons pas vu d'anthéridies marginales lorsque les prothalles se développent dans le milieu $K + n$, à la lumière continue, mais elles sont très fréquentes dans le milieu infecté.

6° En présence du Champignon, les prothalles n'atteignent jamais la taille de ceux qui effectuent leur croissance en lumière continue, dans le milieu K + n.

Nous pouvons tirer de cette étude comparative du développement d'*A. aureum*, dans le milieu de Knop, en présence du Champignon cellu-

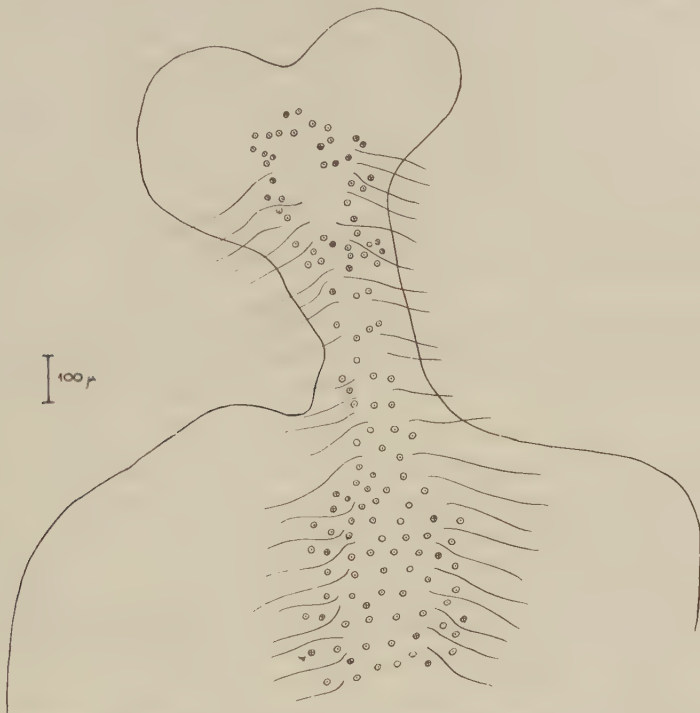


Fig. 67. — *Dryopteris parasitica*. Prolifération de la zone de l'échancrure donnant une expansion cordiforme.

lytique, et dans le milieu K + n, en lumière continue, les conclusions suivantes :

1° La présence du Champignon cellulolytique a permis le développement d'*A. aureum* en lumière ordinaire. Il a donc enrichi le milieu de Knop d'un ou plusieurs facteurs qui lui faisaient défaut pour déclencher les divisions longitudinales et dépasser le stade filamenteux.

2° Mais l'action du Champignon cellulolytique est moins favorable que celle de la lumière continue. En effet, les cultures sur Knop infecté présentent les caractères qui traduisent un milieu mal adapté aux besoins des prothalles : le stade filamenteux est anormalement long, les spatules sont trop étirées et l'apparition des anthéridies est trop précoce.

4. *Dryopteris parasitica*. — Nous avons réalisé assez peu d'essais avec *D. parasitica*. Ils nous ont montré, en particulier, qu'en solution de Knop, à la lumière ordinaire, cette espèce se développe aussi mal

que *D. setigera*. Nous avons alors recherché si l'adjonction du Champignon cellulolytique au milieu de culture n'améliorerait pas la croissance et ne permettrait pas d'obtenir, au lieu de prothalles longuement filamenteux, ramifiés ou à cellules irrégulières, des aspects morphologiques normaux.

L'influence du Champignon sur la croissance de *D. parasitica* se manifeste par la formation de prothalles cordiformes de grande taille, porteurs d'organes sexuels. Il existe cependant une particularité qu'il faut mentionner. Les prothalles ont une tendance prononcée à redonner, à partir de la région méristématique de l'échancrure, un nouveau prothalle cordiforme qui finit, lui aussi, par porter les organes sexuels (fig. 67).

Rappelons que nous avions déjà observé ce fait sur *P. longifolia*, lorsque cette espèce se développe sur des milieux renfermant, comme source d'azote, des nitrates et une très faible quantité de sel d'ammonium (fig. 27).

L'action morphogénétique du Champignon cellulolytique sur *D. parasitica* est donc très importante. Mais on peut se demander pourquoi il apparaît une reprise d'activité de la part des cellules situées dans l'échancrure.

5. Conclusions. — Pour terminer cette étude de l'action du Champignon cellulolytique, nous dégagerons les conclusions suivantes :

a. L'influence du Champignon est nette sur les quatre espèces que nous avons mises en expérience.

b. Là encore, comme pour les milieux minéraux, des différences spécifiques se manifestent. L'association avec le Champignon est plus avantageuse pour *D. setigera*, *D. parasitica* et *P. longifolia* que pour *A. aureum*.

II. — ACTION D'« ALTERNARIA HUMICOLA ».

1. *Pteris longifolia*. — Au cours d'essais sur la germination de *Pteris longifolia*, nous avons pu mettre en évidence quelques facteurs qui règlent l'émission du premier rhizoïde et de la première cellule chlorophyllienne. Nous avons vu que des spores ensemencées sur eau distillée montrent bientôt un long rhizoïde. Mais, pour obtenir la sortie de la cellule verte, il est indispensable qu'un corps azoté soit présent dans le milieu : nitrate, nitrite, sel d'ammonium. Dans ces milieux qui renferment uniquement un corps azoté la cellule chlorophyllienne peut se diviser un petit nombre de fois et donner un court filament (voir p. 20).

Certains sels d'ammonium, cependant, se montrent toxiques, en particulier l'acétate d'ammonium, qui empêche toute germination. Mais, dans des tubes renfermant une solution d'acétate d'ammonium à 0,1 g p. 1 000 et contaminés par un Champignon, nous avons eu la surprise de constater l'existence de jeunes prothalles : filaments composés de nombreuses petites cellules, ou spatules déjà grandes, formées après un stade

filamenteux raccourci (fig. 68 *a, b, c*). Le Champignon a pu être déterminé, il s'agit d'*Alternaria humicola* Oudemans.

Nous avons conservé ces tubes, afin de déterminer le stade de croissance auquel arriveraient les jeunes gamétophytes et l'aspect que prendraient les cultures. Les observations faites montrent que la végétation est lente. Au bout de six mois, on obtient cependant de grands prothalles assez étirés et plus ou moins ramifiés (fig. 69). Quelques-uns d'entre eux ont un caractère particulier. Ils ont donné naissance, à partir de la zone méristématique de l'échancrure, à une lame cordiforme sur laquelle se constitue un coussinet d'où partent des rhizoïdes (fig. 70). Ces prothalles sont richement pourvus d'archégones, les anthéridies sont moins abondantes. Nous avons obtenu des plantules parfaitement constituées.

Nous pouvons faire, dès à présent, un certain nombre de remarques :

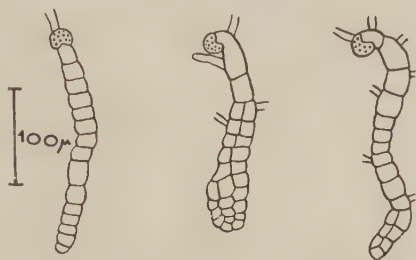


Fig. 68. — *Pteris longifolia*. Prothalles obtenus sur une solution d'acétate d'ammonium, en présence d'*Alternaria humicola*.

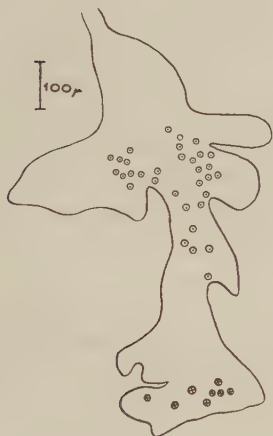


Fig. 69.

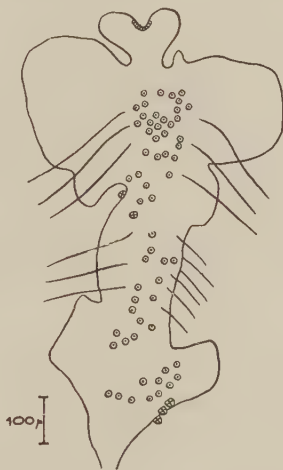


Fig. 70.

Fig. 69. — *Pteris longifolia*. Prothalle sexué développé sur une solution d'acétate d'ammonium, en présence d'*Alternaria humicola*.

Fig. 70. — *Pteris longifolia*. Lame cordiforme produite par la zone de l'échancrure. Culture sur une solution d'acétate d'ammonium, en présence d'*Alternaria humicola*.

1° Dans un milieu très pauvre et toxique pour *P. longifolia*, la présence d'*Alternaria humicola* a permis le développement des prothalles jusqu'à la constitution de plantules.

2° Les prothalles constitués ne sont pas absolument typiques, massifs et cordiformes. Ils sont de grande taille, plus ou moins étirés et ramifiés.

3° Leur comportement est caractérisé souvent par la prolifération de la zone méristématique de l'échancrure qui redonne une lame cordiforme. Ce fait a déjà été signalé chez *P. longifolia*, quand le développement a lieu en présence de faible quantité de sel d'ammonium (fig. 27), et chez *D. parasitica*, dont la croissance est influencée par le Champignon cellulolytique (fig. 67).

4° La formation des archégonies est très favorisée. Il semble qu'on retrouve, ici encore, l'action des sels d'ammonium sur la constitution des organes sexuels femelles.

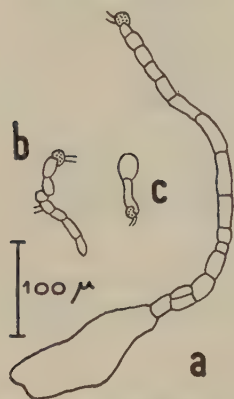


Fig. 71. — *Pteris longifolia*.

a, prothalle âgé de six mois, sur une solution d'acétate d'ammonium, en présence d'*Alternaria humicola*; b et c, cultures témoins.

EXTRAIT DE TERRE. — Un autre milieu très défectueux est amélioré par la présence du Champignon. Nous avons vu que, sur l'extrait de terre, le développement de *P. longifolia* s'arrêtait après la formation d'un court filament.

L'introduction du Champignon dans les tubes de culture ne conduit pas à des résultats spectaculaires. La croissance est très lente, mais on peut voir, cependant, une nette influence sur la division cellulaire. Le stade filamenteux, c'est-à-dire la phase des divisions transversales, est dépassé. Des recloisonnements obliques et longitudinaux aboutissent à la formation d'une spatule. Celle-ci ne s'agrandit pas vite. Ainsi, au bout de quatre mois, les prothalles ne sont pas plus importants que celui représenté sur la figure 71, a. Mais, si nous nous reportons aux cultures témoins, nous pouvons mesurer le progrès accompli. En effet, les prothalles sont demeurés au stade filamenteux. Ils ont, de plus, pris une coloration brunâtre, signe de la nécrose qu'ils ont subie (fig. 71, b, c).

MILIEU A BASE DE SULFATE D'AMMONIUM EN LUMIÈRE CONTINUE. — Nous avons enfin constaté qu'un troisième milieu toxique permettait le développement de *P. longifolia*, lorsque les prothalles et le Champignon sont cultivés ensemble.

Nous savons que le milieu à base de sulfate d'ammonium dont la composition est donnée page 34 permet, en lumière continue, un départ favorable. Les jeunes stades sont normaux, mais les prothalles ne tardent pas ensuite à se nécroser. La présence du Champignon semble atténuer l'action nocive de la lumière, car nous avons obtenu, dans ces conditions, à côté de prothalles qui n'avaient pas résisté, un certain nombre d'autres, porteurs de très nombreuses archégonies et de quelques anthéridies.

MILIEU DE KNOP. — Nous venons de voir que le Champignon imparfait : *Alternaria humicola*, exerce une action sur la division cellulaire, même si les milieux ne conviennent absolument pas au développement

de *P. longifolia*. Celle-ci doit être beaucoup plus manifeste encore, si les milieux sont plus adaptés aux besoins du prothalle.

En effet, l'action morphogénétique du Champignon, lorsque les spores de *P. longifolia* sont ensemencées sur milieu de Knop, est bien visible. Dans ce milieu, le stade filamenteux est souvent très prolongé, on peut se rendre compte qu'il est réduit à une ou à un petit nombre de courtes cellules lorsque *Alternaria humicola* est présent dans les cultures (fig. 72, a, b). Le prothalle prend ensuite une forme massive.



Fig. 72. — *Pteris longifolia*. Prothalles à stade filamenteux plus ou moins réduit. Culture sur Knop, en présence d'*Alternaria humicola*.

2. *Dryopteris setigera*. — L'influence du Champignon sur le développement de *D. setigera* est également importante, bien que les aspects morphologiques restent assez éloignés de ceux observés dans les conditions naturelles.

MILIEU DE KNOP. — Sur le milieu de Knop en culture aseptique, le stade filamenteux persiste très longtemps. Les spatules se forment avec difficulté et sont peu nombreuses. La présence du Champignon modifie ces aspects. Le stade filamenteux demeure important, mais à l'extrémité de chaque filament, un prothalle cordiforme se constitue. Les cultures se couvrent de plantules dans les délais normaux.

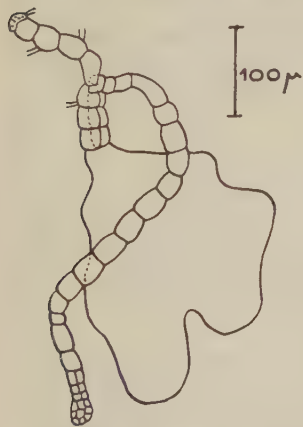


Fig. 73. — *Dryopteris setigera*. Prothalle obtenu sur milieu renfermant du chlorure d'ammonium, en présence d'*Alternaria humicola*.

MILIEUX A BASE DE NITRATES ET DE SELS D'AMMONIUM. — En lumière ordinaire, les milieux renfermant comme source d'azote, à la fois des nitrates et un sel d'ammonium conduisaient à des résultats à peine supérieurs à ceux obtenus sur liquide de Knop. La formation des spatules n'était que légèrement facilitée.

Par contre, si l'on introduit ce Champignon dans le milieu de culture, on voit se former, à côté de filaments plus ou moins longs et plus ou moins bifurqués, de grands prothalles cordiformes sur lesquels les organes sexuels s'ébauchent à la fin du premier mois. Quelques-uns de ces prothalles, cependant, sont anormaux (fig. 73).

Si nous comparons l'action d'*Alternaria humicola* et celle du Champignon

cellulolytique sur *D. setigera*, nous voyons qu'elles présentent entre elles une similitude : ces deux Champignons exercent une même influence sur la division cellulaire, puisque, dans des milieux peu favorables, ils permettent le passage du stade de division transversale au stade des divisions longitudinales et obliques.

Mais il apparaît aussi une différence :

— le Champignon cellulolytique agissait fortement, en ce sens que les aspects morphologiques étaient sensiblement identiques à ceux observés dans la nature ; le stade filamenteux, très court, était rapidement suivi de la constitution d'une spatule ;

— *Alternaria humicola* exerce, au contraire, une action plus effacée. Le stade filamenteux reste important avant que ne s'ébauche la région méristématique.

Dans ces deux cas, cependant, le développement de *D. setigera* est amélioré par la présence des organismes mycéliens.

3. *Acrostichum aureum*. — Nous avons vu que le Champignon cellulolytique peut se substituer, bien qu'imparfaitement, à la lumière continue, pour déclencher les divisions cellulaires qui concourent à la formation de la spatule. Il est intéressant de rechercher quelle sera l'action d'*Alternaria humicola* et de voir si elle se montrera plus intense ou plus atténuée que celle du Champignon cellulolytique.

Observons l'aspect des cultures dans les différents milieux.

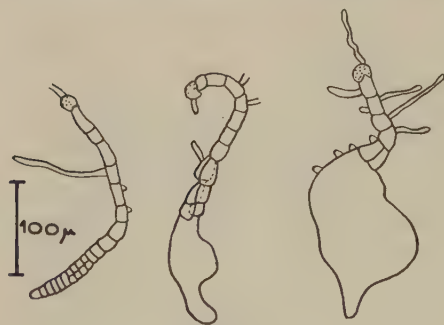


Fig. 74. — *Acrostichum aureum*. Prothalles obtenus sur Knop, en présence d'*Alternaria humicola*.

MILIEU DE KNOP. — Les cultures sur milieu de Knop infecté par *Alternaria humicola* présentent des structures normales, à cette

différence près que le stade filamenteux est un peu plus long que sur les prothalles développés en lumière continue (fig. 74, a, b, c). La croissance



Fig. 75. — *Acrostichum aureum*. Cultures témoins sur Knop.

aussi est beaucoup plus lente. Les résultats sont néanmoins satisfaisants. Ils sont bien meilleurs que ceux obtenus sous l'influence du Champignon cellulolytique. La figure 75 représente l'aspect des cultures témoins.

MILIEUX RENFERMANT DES NITRATES ET UN SEL D'AMMONIUM. — Les cultures ont un aspect différent de celui qu'elles prennent sur le

milieu de Knop. Le développement est moins bon. En effet, si la présence du Champignon excite les divisions cellulaires, le processus n'aboutit pas toujours à des prothalles normaux. Il en existe beaucoup d'autres, extrêmement ramifiés (fig. 76). Cette anomalie relève-t-elle de l'action du champignon ? Il ne le semble pas, puisque, sur milieu de Knop contaminé, les structures sont normales.

La composition du milieu est peut-être en cause. Différentes observations nous inclinent à le penser.

a. Tout d'abord, les prothalles d'*Acrostichum aureum*, développés en lumière continue sur un milieu à base de nitrite d'ammonium (voir p. 44), sont quelquefois très bifurqués (fig. 43).

b. D'autre part, nous avons constaté une certaine anarchie dans la division cellulaire chez les prothalles de *Pteris longifolia*, lorsque ceux-ci effectuent leur croissance à la lumière continue et sur des milieux dont la source d'azote est constituée par des nitrates et un sel d'ammonium. Il se produit plusieurs méristèmes, plusieurs expansions (fig. 28).

c. Nous avons observé des formes comparables parmi les prothalles de *D. setigera*, cultivés dans les mêmes conditions (fig. 56).

L'action des sels d'ammonium, ajoutée à celle de la lumière continue ou du Champignon imparfait, favoriserait donc la formation de ramifications.

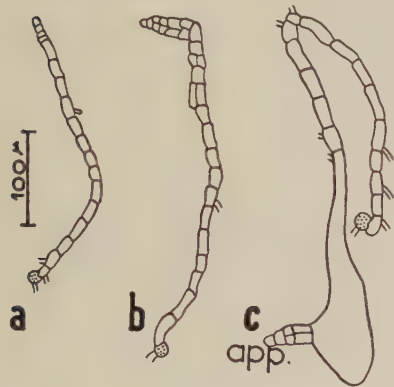


Fig. 77. — *Acrostichum aureum*. Prothalles obtenus sur une solution d'acétate d'ammonium, en présence d'*Alternaria humicola*.

app, appendice comprenant l'ex-celleule terminale du filament germinatif.

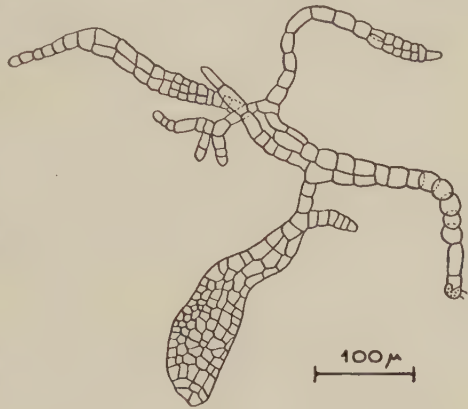


Fig. 76. — *Acrostichum aureum*. Prothalle très ramifié. Milieu renfermant du chlorure d'ammonium et *Alternaria humicola*.

ACÉTATE D'AMMONIUM. — Un milieu qui permet d'apprécier davantage encore l'influence du Champignon sur la division cellulaire est constitué par une solution d'acétate d'ammonium à 0,1 p. 1 000. Ce milieu, dans des condi-

tions aseptiques, est toxique pour les prothalles.

L'infection fongique diminue l'effet nocif. Si la croissance est très lente, elle aboutit quand même à la formation de petites spatules. Au bout de quatre mois, on peut voir des prothalles tels que ceux représentés sur la figure 77, a, b, c.

Il est évident que le stade filamenteux est beaucoup trop prolongé, que la spatule est trop étirée. Mais il n'en demeure pas moins que, dans un milieu très pauvre et en lumière ordinaire, des divisions longitudinales et des recloisonnements transversaux se sont produits.

Nous pouvons remarquer, comme lors du développement en présence du Champignon cellulolytique, que l'« appendice cellulaire », fragment terminal de la spatule, est déjeté vers le sommet du prothalle.

Mentionnons, en terminant l'étude d'*Alternaria humicola*, qu'une autre espèce du genre est capable d'agir, elle aussi, sur la croissance d'une plante supérieure. Les expériences de BOSE nous le montrent, en effet. Cet auteur étudie le développement de plantules issues de grains de Blé infectés par *Alternaria tenuis*. Un premier lot est traité par la chaleur, afin de détruire le Champignon. Le second lot est utilisé tel quel. BOSE constate que le développement est moins rapide chez les plantules issues des grains dont le parasite a été éliminé. Il remarque, toutefois, que, dans certains cas, cette symbiose bénéfique se transforme en parasitisme nuisible.

4. Conclusions. — 1° L'influence morphogénétique d'*Alternaria humicola* sur les prothalles des trois espèces de Fougères étudiées est donc très importante, mais elle varie d'une espèce à l'autre. Elle est très intense sur *P. longifolia* et *A. aureum*, moindre sur *D. setigera*.

2° Chez *P. longifolia*, elle permet :

a. Le passage rapide du stade filamenteux au stade de lame cellulaire ; ceci est très net avec le milieu de Knop ;

b. L'obtention de grands prothalles sexués et même porteurs de plantules dans un milieu aussi simple qu'une solution d'acétate d'ammonium à 0,1 p. 1 000.

3° Le développement d'*Acrostichum aureum*, sur milieu de Knop, est très satisfaisant. L'aspect des cultures est proche de celui obtenu en lumière continue. Il est meilleur que celui observé en présence du Champignon cellulolytique. La division cellulaire est également excitée, lorsque le milieu renferme uniquement de l'acétate d'ammonium.

4° L'action du Champignon sur *D. setigera* est nette, mais beaucoup moins puissante que celle du Champignon cellulolytique.

3° Influence des prothalles sur les Champignons.

L'association prothalle-Champignon se montre bénéfique pour la Fougère, mais en est-il de même pour l'organisme mycélien ? Étudions d'abord le Champignon cellulolytique. Bien fixé sur le fragment d'étoffe qu'il parasite, son développement se poursuit, semble-t-il, sans la moindre gêne.

Il n'en est pas toujours ainsi pour *Alternaria humicola*. Lorsqu'il croît en présence de *D. setigera* ou de *P. longifolia*, le feutrage mycélien devient

dense et il produit des macroconidies nombreuses. Par contre, lorsqu'il se développe avec *A. aureum*, son comportement est différent. Il se maintient à l'état de quelques filaments, ne produit pas d'organes de multiplication et, lorsque les prothalles ont atteint une grande taille, il paraît ne subsister qu'avec peine.

4^o Action de diverses bactéries.

Nous donnerons quelques détails sur l'action de bactéries isolées du sol. Ces essais sont fragmentaires. Ils n'ont pour but que de démontrer l'importance extrême de la microflore du sol sur la morphogenèse des prothalles de Fougères.

Nous avons obtenu, sur plaques de silico-gel imprégnées soit de nitrate de potassium, soit de glucosamine, des colonies bactériennes. Certaines de ces colonies réensemencées dans des tubes contenant un dépôt de carbonate de calcium, une solution de Knop glucosée à 1 p. 100 et ramenée à pH 7 par une solution de potasse, montrèrent la propriété de se développer au fond des tubes, le liquide surnageant restant clair.

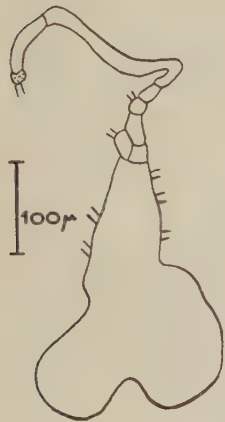


Fig. 78. — *Dryopteris setigera*. Prothalle cordiforme obtenu sur milieu de Knop glucosé, en présence de bactéries du sol.

Nous avons alors introduit des spores de *D. setigera*. Nous savons que cette espèce est très exigeante sur les conditions de culture et qu'elle donne, dans les milieux minéraux ordinaires, de très longs filaments. Il en est d'ailleurs de même sur milieu de Knop glucosé. La présence des bactéries a joué un grand rôle. En effet, après un stade filamenteux, relativement peu important, on obtient de grands prothalles cordiformes (fig. 78) et, dans les délais habituels, l'apparition de plantules.

Signalons enfin l'action d'une bactérie cellulolytique orangée, isolée sur des carrés de lin. Nous avons introduit ces "morceaux de tissu attaqué au fond de tubes renfermant uniquement une solution de nitrate de potassium et nous avonsensemencé des spores de *P. longifolia*. Nous avons pu constater que, dans ce milieu pauvre, après un stade filamenteux qui demeure important, de grands prothalles plus ou moins normaux se sont constitués. Mais ils sont souvent attaqués par la suite, de même que les débris de sporanges que l'on voit dans un net état de désagrégation.

Ces quelques résultats permettent de supposer que de nombreuses espèces, dans le sol, sont capables d'influer sur la morphogenèse des prothalles de Fougères.

Nous pensons aussi qu'ils peuvent être rattachés à un problème plus général et qui commence d'être envisagé, celui des interactions entre

les végétaux. Nous en citerons quelques exemples très démonstratifs. Ainsi, BECKER, GUYOT et MONTÉGUT observent que le développement de *Melampyrum arvense* est favorisé par les excréments racinaires de diverses Graminées. DELEUIL montre que l'absence de plantes annuelles dans le *Rosmarino-Ericion* est due à la sécrétion de substances toxiques par les espèces caractéristiques de l'association. BODE et FUNKE mettent en évidence l'action nocive d'*Artemisia absinthium* sur 18 espèces de plantes semées à son voisinage. On peut encore citer les travaux de PICKERING, BEDFORD, PROEBSTING, GILMORE, BENEDICT, MYERS, ANDERSON, GALSTON, SCHREINER, qui relatent des faits comparables sur différents Végétaux supérieurs.

Mentionnons, pour terminer, quelques travaux importants sur les organismes inférieurs. WAKSMAN, à qui l'on doit la découverte de la Streptomycine, met en évidence les propriétés antagonistes de très nombreux Champignons du sol vis-à-vis d'autres Champignons ou de bactéries. BRIAN montre que l'extrait de *Penicillium janczewskii* trouble la morphogénèse de certains Champignons.

Ce rapide aperçu des influences réciproques entre les végétaux laisse entrevoir que le phénomène est très important, et il serait, sans doute, très intéressant d'en élucider, peu à peu, tous les mécanismes.

5° Mode d'action des micro-organismes.

L'influence des Champignons sur le développement des prothalles de Fougères est connue depuis longtemps chez certaines espèces. Dans tous les cas décrits, il s'agit d'organismes qui s'installent à l'intérieur des cellules et vivent dans un état de symbiose.

Les Champignons que nous venons d'étudier se comportent différemment. Ils ne pénètrent pas à l'intérieur des cellules, et même, par exemple, *Alternaria humicola* qui exerce une influence remarquable sur le développement d'*Acrostichum aureum*, semble ne subsister qu'avec peine dans le milieu.

Le problème se pose de savoir quel est le mécanisme d'action des Champignons et des bactéries du sol.

— Y a-t-il production d'une substance inconnue qui diffuse dans le milieu de culture ?

— Les micro-organismes forment-ils certaines vitamines dont les prothalles seraient incapables de faire la synthèse ?

— Conduisent-ils à une modification du milieu, par exemple en transformant les débris de sporanges, très souvent mêlés aux spores, ce qui entraînerait un apport supplémentaire de substances nutritives ?

Ces trois modes d'action sont vraisemblables et, quelquefois, peut-être même simultanés.

Avant de terminer l'étude de l'influence morphogénétique des Champi-

gnons, signalons une ressemblance qui existe entre le comportement d'*Acrostichum aureum* et celui de certaines Mousses.

Nous avons vu que, dans un milieu minéral aseptique, le développement d'*A. aureum* ne s'effectue qu'en lumière continue. Mais une infection fongique permet le développement à la seule lumière du jour.

SIRONVAL rapporte des faits identiques chez les Mousses. Il ensemence sur gélose glucosée des spores qui donnent naissance au protonéma. Celui-ci, normalement, ne vit pas longtemps. Il meurt dans la nature, comme dans les cultures aseptiques placées en lumière diffuse.

Mais il persiste toujours, dans les conditions naturelles, quelques cellules qui, en se divisant, produisent un nouveau type de filaments ramifiés (caulonéma) qui seul peut donner les bourgeons d'où naîtront les tiges feuillées. Quelques cellules survivent aussi lorsque les cultures sont placées en lumière intense ou lorsqu'elles sont infestées par des bactéries ou un Champignon.

M^{me} HUREL-PY, de même, sur des cultures bien éclairées, obtient la formation de bourgeons.

SCHOPFER interprète ces faits de la façon suivante : l'infection doit livrer au protonéma un ou plusieurs facteurs qu'il est incapable de synthétiser en lumière diffuse, mais qu'il peut produire lorsque la lumière est intense.

Il en est peut-être de même pour *A. aureum*, sur laquelle l'action de la lumière et celle des Champignons se montrent interchangeables.

PERRIN, par des cultures aseptiques, avait voulu montrer qu'une infection fongique ou bactérienne n'est pas indispensable au développement des Fougères et l'avait montré, en fait, pour de nombreuses espèces. Mais il semble qu'il ne faut pas généraliser. On peut penser qu'en dehors des Ophioglossacées, où l'infection est de règle, il existe peut-être, dans toutes les familles, quelques espèces plus exigeantes que les autres et qui ne peuvent se développer normalement à la lumière ordinaire, sans le secours de micro-organismes, ces derniers leur apportant les facteurs de croissance qu'elles ne peuvent fabriquer. Remarquons toutefois que, dans le milieu sol, ces facteurs existent peut-être aussi dans les produits végétaux en décomposition.

6^o Action de la Pénicilline.

Il nous a paru intéressant de rechercher si un produit d'origine fongique tel que la Pénicilline pourrait jouer un rôle morphogénétique au cours de la croissance du gamétophyte.

Cette substance est douée de propriétés bactériostatiques vis-à-vis de nombreux microbes pathogènes. Mais, inversement, elle peut se comporter comme une hormone de croissance vis-à-vis des plantes supérieures. Les expériences de CAMUS le montrent nettement. On sait que le parenchyme vasculaire du tubercule mur de Topinambour, cultivé *in vitro*,

est incapable de synthétiser les substances nécessaires à sa prolifération. La présence d'acide indole-acétique est indispensable. CAMUS essaye alors de voir si la Pénicilline ne pourrait jouer le même rôle. Il constate que la substitution est possible. En effet, la croissance des fragments se déclenche. Des cals apparaissent. Cet auteur montre de plus que la formation des cals n'est pas due à un accroissement isodiamétrique des cellules, mais à une multiplication cellulaire intense.

Exposons maintenant les faits observés sur les prothalles de *P. longifolia*, *D. setigera* et *A. aureum*. Les cultures sont pratiquées sur milieu de Knop, auquel nous ajoutons 1, 10, 50, 100, 200, 500 unités par centimètre cube. La stérilisation est effectuée à 120°, pendant vingt minutes.

Les essais réalisés avec *P. longifolia* et *D. setigera* ne donnent aucun résultat intéressant. Mais il n'en est pas de même avec *A. aureum*. Le prothalle de cette espèce, comme nous l'avons déjà vu, ne peut pas effectuer sa croissance en lumière ordinaire, dans un milieu aseptique. Nous avons montré qu'il y parvient en présence d'*Alternaria humicola* et du Champignon cellulolytique.

Un phénomène analogue se produit, sous l'influence de la Pénicilline, lorsque celle-ci atteint une concentration convenable. Avec une teneur de 1 unité par centimètre cube, le développement est très lent. Aux doses de 10, 50, 100 unités par centimètre cube, il est très bon, bien que quelques structures anormales apparaissent. La croissance est pratiquement nulle, lorsque la concentration atteint 500 unités par centimètre cube.

Ainsi donc, *A. aureum* réagit à la présence de la Pénicilline (ou de ses produits de décomposition, après autoclavage à 120°) et elle devient capable, dans ces conditions, d'effectuer son développement en lumière ordinaire.

Un produit d'origine fungique a donc exercé une influence marquée sur la morphogénèse du prothalle d'*A. aureum*.

7° Conclusions.

Si nous récapitulons l'ensemble des connaissances actuelles sur l'action morphogénétique des micro-organismes, nous pouvons dire que :

1. Un endophyte est indispensable pour le développement des Ophioglossacées.
2. On rencontre des endophytes chez quelques Gleicheniacées, Marattiacées et Schizacées.
3. Nos expériences montrent que de nombreux micro-organismes sont capables, directement ou indirectement, d'influer sur la croissance des prothalles de Fougères.
4. Il existe peut-être d'autres espèces qui, telles qu'*A. aureum*, ne peuvent se développer en culture aseptique, lorsqu'elles sont maintenues en lumière ordinaire.
5. La Pénicilline, produit d'origine fungique, permet le développement du prothalle d'*A. aureum*.

CHAPITRE III

LE STADE FILAMENTEUX ET LA PHYLOGENÈSE

Les prothalles, ainsi que nous l'avons vu au cours de nos expériences, sont très sensibles aux conditions environnantes. Leur première réaction, lorsqu'ils se développent sur des milieux non adaptés à leurs besoins ou en lumière faible, est de donner un stade filamenteux beaucoup trop prolongé.

Prenons comme exemple *P. longifolia* et *D. setigera*. Sur le sol, le filament initial se réduit très souvent à une ou deux cellules. Ensemencée sur milieu de Knop, *P. longifolia* présente un filament formé de plusieurs longues cellules. Il est réduit ou supprimé dans les milieux renfermant, à la fois, des nitrates et un sel d'ammonium, ou en présence du Champignon cellulolytique. Chez *D. setigera* le tube germinatif peut atteindre 1 cm et plus lorsque le développement a lieu en solution de Knop.

Nous avons étudié une autre espèce sur laquelle il est extrêmement facile de modifier l'importance du stade filamenteux. Il s'agit de *Lygodium Smithianum*.

Si l'on ensemence des spores en lumière du jour, sur milieu K ou K + n, le filament initial comprend plusieurs cellules allongées. Mais, lorsque ces milieux sont placés en lumière continue, la proportion des germinations avec lame cellulaire d'emblée ou filament très réduit est importante.

Nous avons réalisé des expériences identiques sur un milieu à base de nitrite d'ammonium, en lumière ordinaire et en lumière continue. Lorsque le développement a lieu en lumière ordinaire, les aspects sont différents selon que la solution contient ou non des oligo-éléments (0,5 cm³ par litre). Les structures sont surtout filamenteuses dans le milieu non enrichi (fig. 79), mais les spatules se constituent très vite lorsque les éléments métalliques sont présents (fig. 80).

En lumière continue, les cultures ont un tout autre aspect. Les spores germées sur milieu au nitrite d'ammonium non additionné d'oligo-



Fig. 79. — *Lygodium Smithianum*. Prothalle filamenteux. Milieu à base de nitrite d'ammonium non enrichi en oligo-éléments. Lumière du jour.

éléments donnent un stade filamenteux très réduit (fig. 81) ou même supprimé. Cette tendance à la suppression du filament est encore accentuée dans le milieu enrichi par la solution de Berthelot. On peut voir, en effet, des spatules plus grandes, élargies, constituées d'emblée sous forme de lames cellulaires. Bien plus, ces formes jeunes ont souvent l'aspect de petites mûres, car la division ne s'effectue pas régulièrement dans un même plan (fig. 82).



Fig. 80.

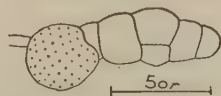


Fig. 81.

Fig. 80. — *Lygodium Smithianum*. Formation précoce d'une lame cellulaire. Milieu à base de nitrite d'ammonium additionné d'oligo-éléments. Lumière du jour.

Fig. 81. — *Lygodium Smithianum*. Filament composé de courtes cellules. Milieu à base de nitrite d'ammonium non enrichi en oligo-éléments. Lumière continue.

délimitant l'apicale et des premières parois longitudinales (fig. 83). On obtient aussi des spatules où le stade filamenteux est supprimé (fig. 84).

Mentionnons enfin un essai que nous avons fait en ajoutant à une solution de Knop non des traces de fer, mais des traces de cobalt, de cuivre ou de nickel.

Nous avons préparé les solutions suivantes de ces trois sels, leur concentration étant la même que dans la solution de Berthelot :

- eau : 1 000 cm³, Cl₂Co, 6 H₂O : 0,05 g ;
- eau : 1 000 cm³, SO₄Cu, 5 H₂O : 0,1 g ;
- eau : 1 000 cm³, Cl₂Ni, 6 H₂O : 0,05 g.

Nous avons ajouté 20 gouttes de l'une ou de l'autre par litre de milieu de Knop. Nous avons constaté qu'il se produit alors des formes anormales (fig. 85), avec stade filamenteux très long et composé de cellules ondulées.

L'exemple de *Lygodium Smithianum*, comme celui de *P. longifolia*, montre qu'il est possible d'agir à volonté sur la longueur du filament germinatif.

On sait, d'autre part, qu'il existe des Fougères dont le prothalle reste filamenteux. Le type le plus parfait de ce genre est réalisé par les *Schizea*, où les organes reproducteurs mâles et femelles prennent naissance sur de simples filaments. Chez les Hyméno-phyllacées, le prothalle est surtout filamenteux. Mais il comporte quelques

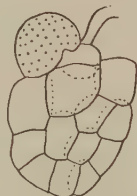


Fig. 82.

Fig. 82. — *Lygodium Smithianum*. Prothalle très massif. Milieu à base de nitrates et un sel d'ammonium. Lumière continue.



Fig. 83.

Fig. 83. — *Lygodium Smithianum*. Stade filamenteux réduit. Milieu renfermant des nitrates et un sel d'ammonium. Lumière du jour.

lames cellulaires d'où repartent des ramifications unisériées, ainsi que des coussinets méristématiques au sein desquels les archégones se constituent.

Deux hypothèses ont été émises sur la signification du stade filamenteux.

Pour certains auteurs, CAMPBELL, HOLLOWAY, la structure des Hyménophyllacées serait plus adaptative que primitive. Pour GEBEL, SAEDBECK, BOWER, THOMAS, le caractère filamenteux serait primitif. Quels sont les arguments avancés ?

Le stade filamenteux résulterait d'une adaptation à l'humidité. Mais cette opinion appelle bien des réserves, car tous les prothalles, obligatoirement, demandent, pour se développer, un degré suffisant d'humidité. Et que penser de ceux cultivés expérimentalement en milieux liquides ? Ils devraient, dans ce cas, présenter une tendance nette à demeurer filamenteux. Or il n'en est rien si la solution nutritive est adaptée à leurs besoins.

Un autre fait qui rend douteuse l'existence d'un phénomène d'adaptation est le suivant : on a remarqué que les feuilles des Hyménophyllacées sont très ténues et que d'autres variétés de Fougères vivant dans les mêmes conditions présentent un type foliaire identique. Mais les prothalles de ces Fougères ne ressemblent jamais à ceux des Hyménophyllacées.

Quelle signification attribuer alors au stade filamenteux ? Il semble plus logique de le considérer comme un caractère primitif. Si l'on admet que l'ontogénie récapitule la phylogénie, le fait que ce stade existe au début du développement de nombreuses Fougères indiquerait qu'il correspond à une structure ancestrale.

Nous pensons que cette hypothèse est exacte, mais qu'elle ne traduit qu'une partie seulement de la réalité. Nous verrons ultérieurement qu'il est possible de la compléter à l'aide d'une interprétation basée sur la physiologie du prothalle et qui permet d'expliquer les différences de comportement suivant les milieux où les cultures sont pratiquées.

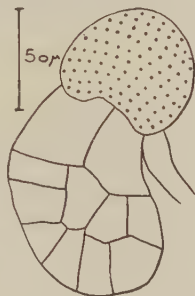


Fig. 84.

Fig. 84. — *Lygodium Smithianum*. Suppression du stade filamenteux. Milieu renfermant des nitrates et un sel d'ammonium. Lumière du jour.

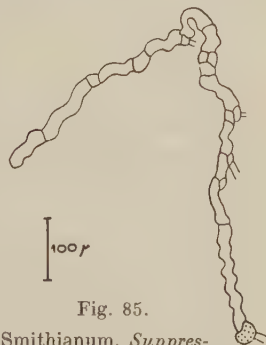


Fig. 85.

Fig. 85. — *Lygodium Smithianum*. Prothalle atypique à cellules ondulées. Knop additionné de nickel. Lumière du jour.

CHAPITRE IV

LA RÉGÉNÉRATION DES PROTHALLES

Nous avons pu mettre en évidence, au cours de nos recherches, quelques facteurs morphogénétiques qui permettent et règlent l'enchaînement des différentes étapes de la constitution d'un prothalle, et nous sommes arrivée à obtenir, expérimentalement, des structures typiques, comparables à celles que l'on peut observer dans la nature.

Cependant, nous avons vu que des anomalies très curieuses apparaissent dans les solutions nutritives défavorables. Elles expriment la grande sensibilité des prothalles aux conditions extérieures et montrent que l'équilibre du gamétophyte est très fragile. La succession des stades n'est pas irréversible. En particulier, il peut y avoir, après formation de la spatule, retour au stade filamenteux par élancement de la cellule apicale ou des cellules marginales. On voit ainsi des cellules quelconques reprendre les potentialités de la cellule chlorophyllienne émise lors de la germination. La production de telles excroissances est connue depuis longtemps. Elle a été vue dans la nature et dans certaines conditions expérimentales. HOFMEISTER (1851) observe des pousses adventives sur des prothalles abortifs de *Notochlaena allosurus* et *Gymnogramme*, où elles proviennent de cellules marginales. WIGAND (1854), GEBEL (1877, 1887), de BARY (1878), BAUKE (1878), CAMPBELL (1892), BRUCHMANN (1904), DOPP (1927) les ont décrites sur des prothalles âgées, à la partie basale surtout.

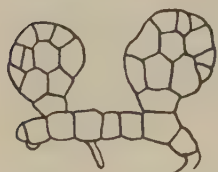


Fig. 86. — *Wittaria elongata*. Développement de jeunes prothalles à partir d'une propagule (D'après GEBEL.)

On peut rattacher à ces phénomènes la reproduction végétative qui existe normalement chez certaines espèces. Ainsi, par exemple, GEBEL décrit des propagules chez *Wittaria elongata*, *Monogramme paradoxa*, et montre leur développement ultérieur qui aboutit à la formation de nouveaux prothalles (fig. 86).

L'apparition d'excroissances, dans les conditions expérimentales, a été observée par de nombreux auteurs. KNY (1872) et de BARY (1878) les voient sur des prothalles poussant très serrés. HEIM (1896) et STOKEY (1930) les remarquent sur des prothalles cultivés en lumière faible. HEIM (1896) et KLEBS (1917) les obtiennent en soumettant les cultures à un éclairage de différentes longueurs d'onde. LINSBAUER (1926) les provoque avec des doses modérées de rayons X. HEIM (1896) observe des pousses

adventives sur des prothalles recouverts de 6 mm d'eau. HEILBRONN (1910) les obtient en plaçant les prothalles dans une atmosphère d'éther ou de chloroforme. ISABURO NAGAI (1914) les voit apparaître après que les prothalles ont été plasmolysés et déplasmolysés dans différentes solutions salines. HEIM (1896), GEBEL (1905), LINDBAUER (1926) et ALBAUM (1938) les décrivent sur des prothalles coupés de différentes façons.

Nous avons pu faire nous-même un certain nombre d'observations qui se rapportent à des excroissances apparues sur des prothalles jeunes ou âgés, mais non traumatisés, ainsi qu'à d'autres obtenues à partir de fragments de prothalles.

I. — Production d'excroissances sur des prothalles jeunes ou plus âgés, non traumatisés.

Nous avons vu des pousses adventives sur plusieurs espèces. Nous énumérerons, pour chacune d'elles, les différentes conditions dans lesquelles elles sont apparues.

1° *Pteris longifolia*. — *a.* Dans les milieux $K + 3n$, $K \frac{1}{4}$, $K \frac{1}{4} + 3n$, en lumière ordinaire, on peut observer des prothalles où une ou plusieurs cellules marginales s'allongent, se divisent, donnent un filament ou une spatule (fig. 6, 7).

b. En lumière continue, nous avons pu constater un fait curieux. Certains prothalles développés sur $K \frac{1}{4} + 3n$ émettent, à partir de nombreuses cellules de la surface, de très longs filaments non cloisonnés (fig. 16).

c. La cellule apicale cesse très souvent de fonctionner comme cellule mère du prothalle, lorsque la jeune spatule effectue son développement sous une couche liquide épaisse et dans du Knop au $\frac{1}{8}$ additionné de sel d'ammonium (fig. 22). Très souvent les cellules marginales s'allongent aussi. Ces faits sont peut-être en relation avec l'anaérobiose ainsi réalisée.

d. Le retour au stade filamenteux est habituel lorsque les prothalles développés en lumière blanche sont ensuite éclairés en lumière rouge. Le phénomène a été décrit par KLEBS. CHARLTON l'observe aussi sur *Osmunda claytoniana*. Mais nous avons vu, en même temps, se produire d'autres anomalies. Les nouveaux filaments ne sont pas toujours de calibre régulier. Ils comprennent parfois des cellules extrêmement renflées (fig. 87).

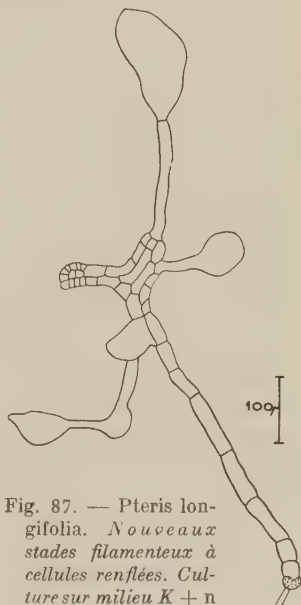


Fig. 87. — *Pteris longifolia*. Nouveaux stades filamenteux à cellules renflées. Culture sur milieu $K + n$ en lumière rouge.

e. La culture en lumière continue et en présence de sels d'ammonium aboutit souvent à la formation de plusieurs filaments et de plusieurs régions méristématiques (fig. 28).

f. Mentionnons aussi un aspect curieux trouvé dans les cultures sur solution d'acétate d'ammonium à 0,1 p. 1 000 et en présence d'*Alternaria humicola*. Un prothalle a redonné, à partir de la cellule terminale, un filament qui a lui-même reconstitué une spatule plus ou moins régulière, portant des organes sexuels (fig. 88).



Fig. 88. — *Pteris longifolia*. Prothalle cultivé sur une solution d'acétate d'ammonium. Formation à partir de la cellule apicale d'un filament (fi) et d'un nouveau prothalle (pr).

2° *Acrostichum aureum*. — a. Lorsque les prothalles se développent sur le milieu à base de nitrite d'ammonium additionné d'oligo-éléments et en lumière continue, certains d'entre eux produisent plusieurs régions méristématiques (fig. 43).

b. Le même phénomène se produit, lorsque la croissance a lieu en présence d'*Alternaria humicola*, dans le milieu de Knop au 1/8 et additionné de sel d'ammonium (fig. 76).

3° *Dryopteris setigera*. — Quelques prothalles développés en lumière continue, sur des milieux renfermant nitrates et sel d'ammonium, se sont abondamment ramifiés à partir des cellules marginales de la jeune spatule (fig. 56).

4° *Lygodium Smithianum*. — Dans de vieilles cultures non repiquées, ayant poussé en lumière faible et sur des solutions de Knop au 1/8 additionnées de sels d'ammonium, de nombreux prothalles ont redonné des filaments à partir des cellules apicales ou marginales. Ces filaments produisent ensuite des spatules assez importantes d'où s'échappent à leur tour d'autres filaments (fig. 89).

Les aspects que nous avons décrits sont identiques à ceux que GEBEL mentionne chez *Alsophila australis* ou que PICKETT et MANUEL signalent chez *Pellea densa*, lorsque les conditions sont défavorables (fig. 1).

5° Conclusions. — Nous avons retrouvé quelques-unes des causes favorisant l'apparition des excroissances et qui avaient déjà été vues par les auteurs : prothalles serrés ou immergés, lumières colorées, solutions nutritives défavorables.

Mais nous pouvons ajouter à cette liste d'autres facteurs :

- a. Trop forte concentration en oligo-éléments ;
- b. Influence combinée de la lumière continue et des sels d'ammonium ;

c. Influence conjointe des sels d'ammonium et du Champignon *Alternaria humicola*.

6° Cas particulier.

— On peut encore faire entrer dans le cadre des prothalles adventifs les lames cellulaires produites, dans certaines circonstances, par la zone méristématique de l'échancrure. Sur des prothalles jeunes, en plein développement, il peut arriver que les initiales cessent de fonctionner normalement. Au lieu de contribuer à donner la forme en cœur caractéristique, des cellules produisent une languette qui, à son tour, peut s'échancrer. Ce cas a été observé par PERRIN au cours de ses nombreuses cultures.

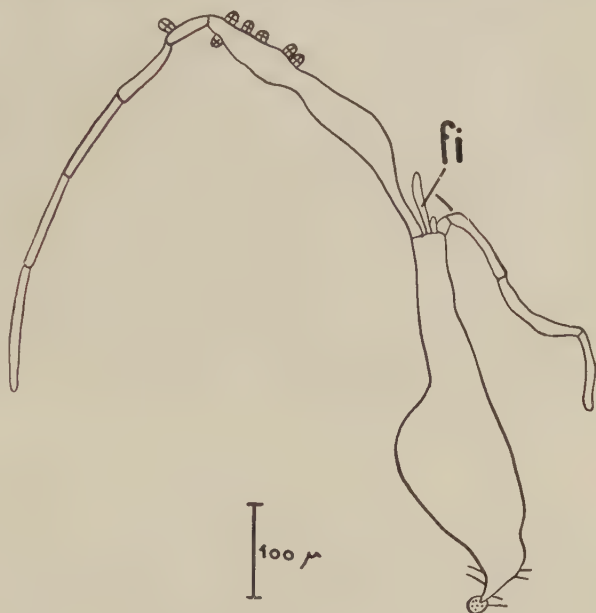


Fig. 89. — *Lygodium Smithianum*. Nouveaux stades filamenteux (fi) à partir de cellules apicales ou marginales.

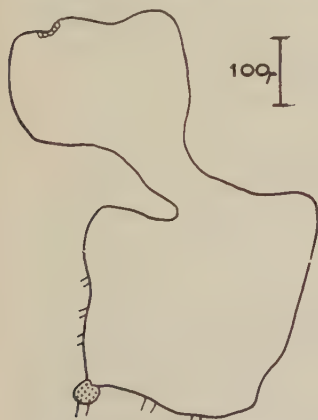


Fig. 90. — *Lygodium Smithianum*. Production d'une nouvelle lame cordiforme à partir de la zone de l'échancrure.

Nous l'avons nous-même retrouvé chez *Lygodium Smithianum*, lorsqu'elle se développe sur du Knop au 1/8 additionné d'une faible quantité de sel d'ammonium (fig. 90). Les mêmes observations ont été faites sur *Pteris longifolia*, dont le développement s'effectue dans des milieux identiques (fig. 27).

Un autre cas intéressant est celui de *D. parasitica*. Cette espèce, cultivée en présence du Champignon cellulolytique, produit de grands prothalles allongés, mais cordiformes, dont les cellules méristématiques de l'échancrure reprennent quelquefois une intense activité mitotique. Ces divisions répétées donnent naissance à une nouvelle lame échancrée qui peut ensuite, à son tour, porter des organes reproducteurs (fig. 67). Cette excroissance ne provient donc plus, comme dans les cas précédents, du fonctionnement

anormal d'une seule cellule apicale ou marginale, mais de celui d'un groupe important de cellules de la zone méristématique.

II. — Excroissances produites sur des fragments de prothalle.

Les expériences sur les prothalles sectionnés ont été assez nombreuses. Les noms de HEIM, GÖBEL, LINSBAUER sont attachés à ces travaux. Ces auteurs ont montré que les fragments provenant de la région apicale ou au voisinage continuent à se développer. Mais les fragments prélevés loin de l'apex donnent naissance à des pousses adventives. Il se développe, à partir d'une cellule de la surface ou d'une cellule marginale, un filament qui se comporte comme le filament issu de la spore. Il donne une région méristématique, puis un prothalle cordiforme sexué qui peut porter des plantules. ALBAUM, en 1936, reprend ces expériences et tente d'interpréter les résultats par un phénomène de production et de diffusion d'hormones. Il est intéressant de connaître les travaux de cet auteur, aussi en donnons-nous un court résumé.

1. Expériences d'Albaum.

Dans une première série d'essais, ALBAUM sectionne en deux des prothalles cordiformes de *Pteris longifolia*, de façon à séparer, d'un côté, les deux ailes et la zone méristématique, de l'autre, la base du prothalle

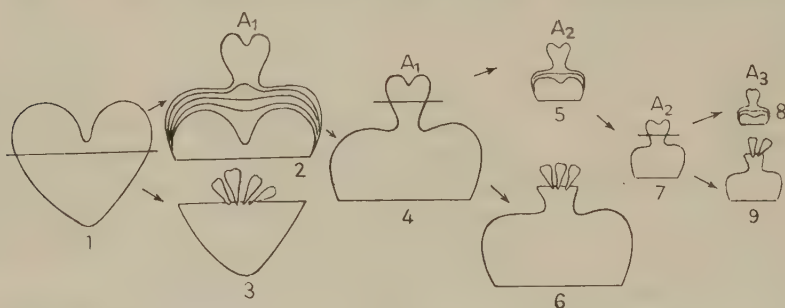


Fig. 91. — *Pteris longifolia*. Régénération d'un prothalle coupé transversalement. (D'après ALBAUM.)

(fig. 91₁). La partie supérieure s'accroît alors et la zone de l'échancrure s'efface rapidement. Finalement, une nouvelle lame cordée se constitue. Sur la partie inférieure apparaissent des prothalles adventifs (fig. 91₃).

Poursuivant ses expériences, ALBAUM coupe la nouvelle partie cordiforme (fig. 91₄). Il obtient des résultats identiques aux précédents. Il y a toujours constitution d'une nouvelle région cordiforme à la partie supérieure, apparition d'excroissances sur la partie inférieure (fig. 91₅ à 91₉).

D'autres essais sont tentés en sectionnant la partie supérieure, de façon à obtenir les ailes séparées. La zone de section passe légèrement au-dessus des cellules initiales (fig. 92₁₀). Que se produit-il ? La partie inférieure, qui, cette fois, comprend le groupe des initiales, donne une nouvelle lame cordi-

forme (fig. 92₁₃). Chaque aile continue à se développer sur la face qui se trouvait à l'intérieur de l'échancrure, et la partie nouvellement formée prend l'aspect d'un cœur (fig. 92₁₁, 92₁₂). En coupant de façon à enlever ce

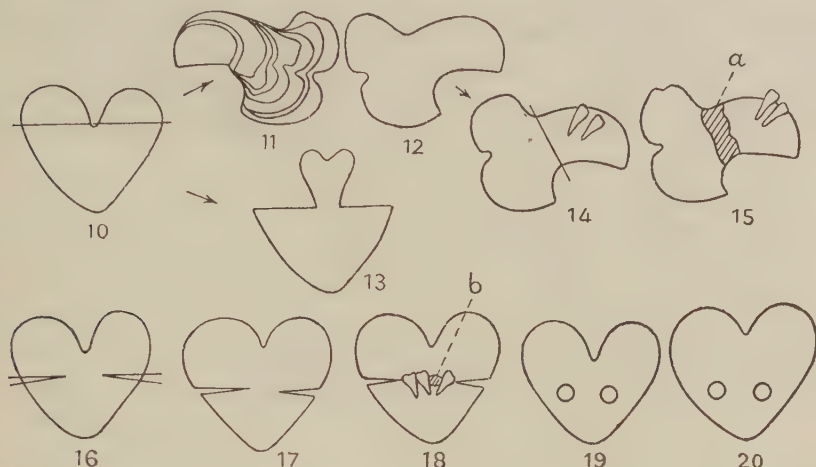


Fig. 92. — *Pteris longifolia*. Régénération à partir d'un prothalle sectionné au niveau de l'échancrure ou présentant deux incisions latérales. (D'après ALBAUM.)

a, b : cellules nécrosées.

qui était la partie initiale de l'aile, ou en détruisant une bande de cellules à la jonction des portions ancienne et néoformée, des prothalles adventifs apparaissent (fig. 92₁₄, 92₁₅).

ALBAUM fait encore les essais suivants. Sur des prothalles cordiformes, il réalise deux entailles (fig. 92₁₆). Dans certains cas, il laisse une bande de

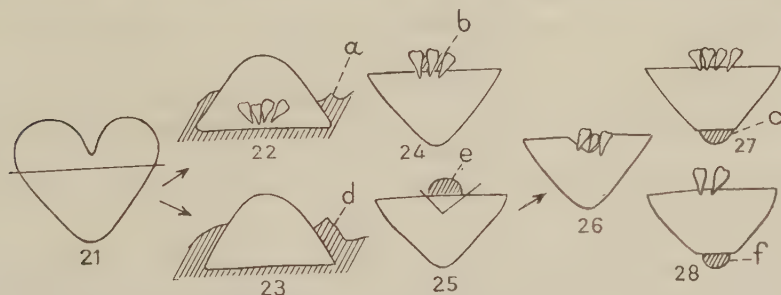


Fig. 93. — *Pteris longifolia*. Application d'acide indole-acétique. Inhibition des excroissances (D'après ALBAUM.)

a : eau ; *b, c* : lanoline ; *d* : eau additionné d'acide indolyl-acétique ; *e, f* : lanoline imprégnée d'acide indole-acétique.

cellules vivantes entre les deux pointes de l'incision (fig. 92₁₇). Dans d'autres cas, il détruit ces cellules. Il s'aperçoit qu'avec une séparation de cellules mortes les prothalles adventifs se forment, mais qu'ils n'apparaissent pas lorsque les cellules n'ont pas été tuées (fig. 92₁₈).

S'il enlève une partie quelconque du prothalle (fig. 92₁₉, 92₂₀), cette opération n'a aucun effet sur la formation des excroissances.

Cet auteur, pensant qu'il s'agit de phénomènes gouvernés par les hormones, essaie de le vérifier de la façon suivante. La partie inférieure d'un prothalle est placée soit dans l'eau, soit dans de l'eau additionnée d'acide indole-acétique. Dans le premier cas, il y a formation de nouveaux prothalles (fig. 93₂₂); dans le deuxième cas, rien ne se produit (fig. 93₂₃).

Continuant ses investigations, ALBAUM place alors un peu de lanoline

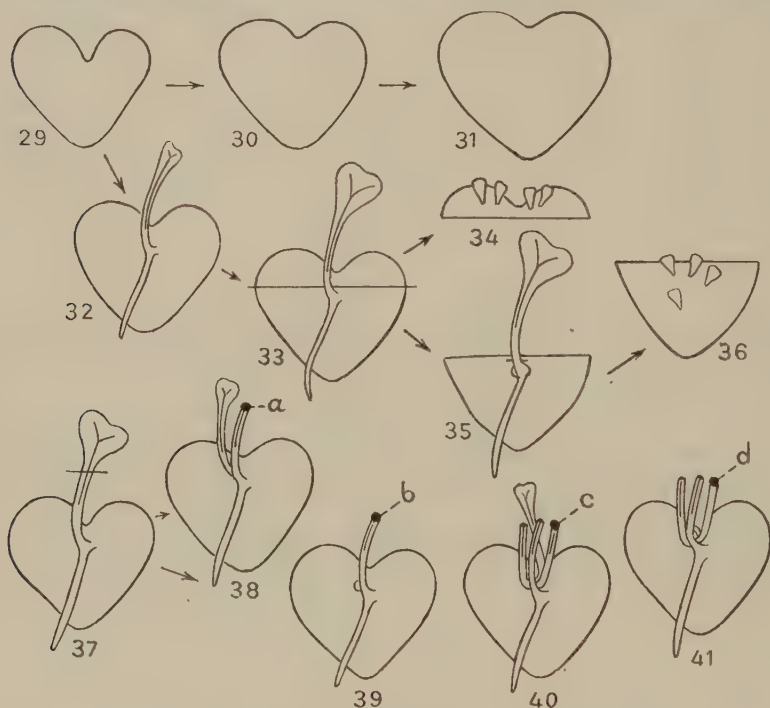


Fig. 94. — *Pteris longifolia*. Action du sporophyte sur le développement des excroissances (D'après ALBAUM.)

30, 31 : prothalles non fécondés ; a, c : lanoline ; b, d : lanoline imprégnée d'acide indole-acétique.

sur la partie sectionnée (fig. 93₂₄). Ceci n'a aucun effet, mais, si la lanoline est imbibée d'acide indole-acétique, les excroissances sont inhibées (fig. 93₂₅). Si l'on enlève la partie du prothalle située au-dessous du dépôt d'acide indole-acétique, les excroissances réapparaissent (fig. 93₂₆).

Si la lanoline imprégnée ou non d'acide indole-acétique est placée sous le prothalle, aucune action inhibitrice ne se manifeste, les excroissances se constituent (fig. 93₂₇, 93₂₈).

ALBAUM étudie encore l'effet de la présence du sporophyte sur la formation des prothalles adventifs. Il sectionne le prothalle cordiforme au-dessus de la jeune plantule (fig. 94₃₃). Il voit, dans ces conditions, des

excroissances se former. Il n'y a pas un nouveau départ de la lame cordiforme (fig. 94₃₄). Sur la partie inférieure, aucune excroissance ne se produit, mais elles apparaissent si la plantule est sectionnée (fig. 94₃₆).

Voulant mettre en évidence le rôle des jeunes feuilles, ALBAUM coupe la première formée (fig. 94₃₇), puis il dépose, à la surface de section, un peu de lanoline pure (fig. 94₃₈) ou imprégnée d'acide indole-acétique (fig. 94₃₉). Dans le premier cas, la deuxième feuille se constitue; dans le second, elle n'apparaît pas.

En traitant à l'éther les régions apicales du gamétophyte de *P. longifolia*, ALBAUM et KAISER ont montré, dans ces tissus, la présence d'auxine. De même, de la gélatine sur laquelle ont été déposés des prothalles de *P. longifolia* est capable de provoquer la courbure du coléoptile d'Avoine.

Les expériences d'ALBAUM montrent clairement que la diffusion de l'hormone est polarisée. Si nous nous reportons à la figure 93₂₈ par exemple, nous voyons que l'hormone appliquée à la partie basale n'inhibe pas le développement des excroissances. Son transport, dans le sens ascendant, ne s'est pas produit.

2. Expériences personnelles.

Nous reviendrons sur tous ces résultats une fois terminée la description de nos propres expériences. Nous pourrons, alors, faire les comparaisons utiles.

Nos essais ont été réalisés sur quatre espèces : *P. longifolia*, *D. parasitica*, *D. setigera* et *A. aureum*. Nous décrirons successivement les expériences qui les concernent.

1^o *Pteris longifolia*. — Nos expériences sur la régénération ont été tentées sur différentes parties du prothalle :

- portions initiales du filament, comprenant la spore et les premières cellules qui lui font suite ;
- portions quelconques du filament ;
- extrémités de jeunes spatules ne présentant pas encore d'échancrure ;
- parties antérieures de spatules jeunes sans échancrure ;
- fragments de vieux prothalles ne portant pas de cellules marginales et découpés en dehors de la région du coussinet ;
- fragments de coussinet ;
- régions cordiformes de prothalles âgés.

Nous avons placé les fragments initiaux soit dans le milieu K + n à la lumière continue, soit dans une solution de Knop au 1/8 additionnée de 0,075 g p. 1 000 de chlorure d'ammonium, en lumière du jour. Dans les deux cas, les résultats sont identiques.

a. *Portions initiales du filament, avec la spore et les premières cellules qui lui font suite.* — On obtient, à partir d'une cellule quelconque du filament

mis à régénérer, la formation d'un nouveau prothalle. La figure 95 nous en donne un exemple. Il arrive dans certains cas que la division cellulaire s'effectue avec anarchie. Le filament pri-

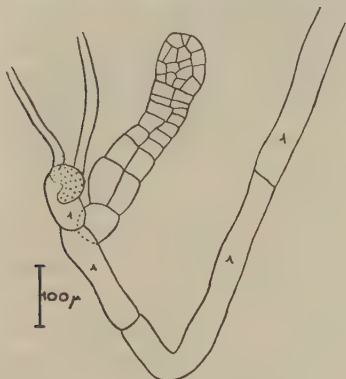


Fig. 95.

Fig. 95. — *Pteris longifolia*. Formation d'un prothalle à partir de la deuxième cellule du filament initial.

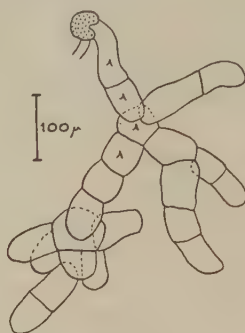


Fig. 96.

Fig. 96. — *Pteris longifolia*. Prolifération désordonnée de nombreuses cellules.

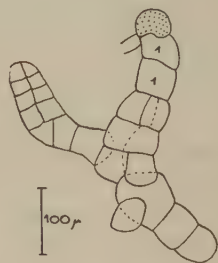


Fig. 97.

Fig. 97. — *Pteris longifolia*. Prolifération assez anarchique; une spatule est cependant en voie de formation.

mitif représenté sur la figure 96 montre que plusieurs cellules ont donné naissance à un filament, mais l'aspect réalisé est tout à fait anormal. La figure 97 représente un filament où la division est moins désordonnée. Une jeune spatule, même, est en voie de formation.

Nos résultats rejoignent ceux de LINSBAUER sur *Gymnogramme chrysophylla*.

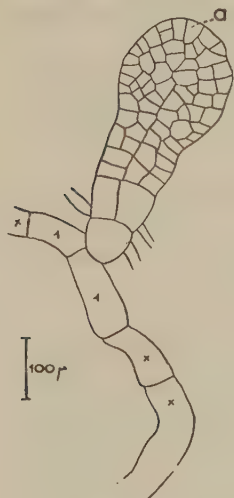


Fig. 98.

Fig. 98. — *Pteris longifolia*. Portion d'un long filament dont une cellule donne naissance à un prothalle typique.

a, cellule apicale.

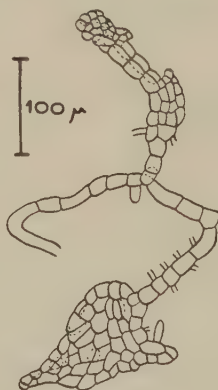


Fig. 99.

Fig. 99. — *Pteris longifolia*. Prolifération désordonnée de cellules sur une portion de filament.

b. *Portions quelconques du filament.* — Les cellules d'une portion quelconque de filament se comportent absolument comme les précédentes. Chacune d'elles est capable de redonner un nouveau prothalle, quelquefois de forme typique, avec une apicale reconnaissable (fig. 98) ou d'autres fois composé d'une masse cellulaire d'aspect désordonné (fig. 99).

Par la suite, les prothalles cordiformes qui se sont constitués portent des organes reproducteurs.

c. *Extrémités de spatules jeunes ne montrant pas encore de début d'échancre.* — Les jeunes spatules sont le siège d'une intense activité au point de vue division cellulaire. Que se passe-t-il si l'on sectionne l'extrémité de ces spatules avant que ne soit apparue l'échancre ? Tout d'abord, la portion basale forme très rapidement de nombreux rhizoïdes. Ensuite, dans le cas général, tout le fragment s'agrandit et finit par donner un prothalle cordiforme sexué (fig. 100). Les plantules se forment par la suite. Tout se passe donc comme si le fait d'avoir enlevé le filament initial et une fraction de la lame cellulaire n'avait eu aucun effet sur la morphologie ultérieure.

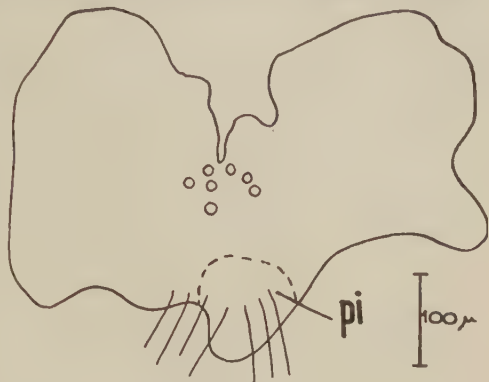


Fig. 100. — *Pteris longifolia*. Prothalle cordiforme formé à partir de l'extrémité antérieure d'une jeune spatule.

pi, portion initiale.

Quelquefois, cependant, le développement est moins satisfaisant. La croissance est plus lente et il se forme des expansions plus ou moins larges ou étirées (fig. 101).

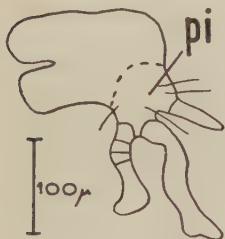


Fig. 101. — *Pteris longifolia*. Prothalle anormal constitué à partir de l'extrémité antérieure d'une jeune spatule.

pi, portion initiale.

d. *Parties antérieures de jeunes spatules.* — Le développement se poursuit comme s'il n'y avait pas eu section de la partie terminale. On obtient des prothalles cordiformes typiques, puis des plantules.

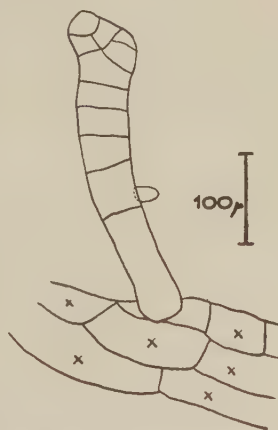


Fig. 102. — *Pteris longifolia*. Production d'une excroissance à partir d'une seule cellule restée vivante.

e. *Fragments de prothalles âgés dépourvus de cellules marginales et découpés en dehors du coussinet.* — Lorsque des fragments quelconques de prothalles âgés sont cultivés sur milieux favorables, on voit apparaître, très vite, des pousses adventives. La figure 102 représente un fragment sur lequel une seule cellule est demeurée vivante. Elle a produit, au bout de quatre jours, un filament sur lequel la cellule apicale est déjà formée. Le développement se poursuit ensuite normalement.

Une activité régénératrice importante s'est manifestée sur le fragment d'assez grande taille, schématisé sur la

figure 103. Nous voyons, en effet, que de très nombreux prothalles, dont la plupart sont cordiformes, ont pris naissance. Le fragment initial a fini par se nécroser.

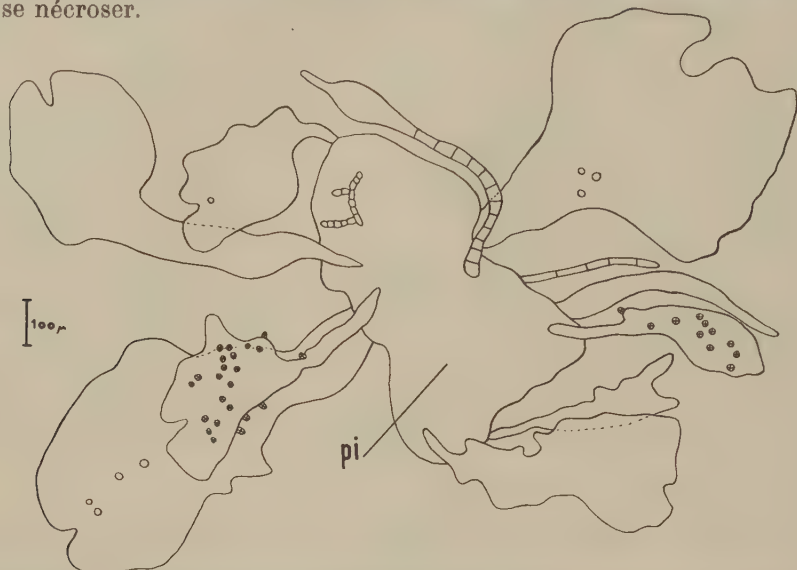


Fig. 103. — *Pteris longifolia*. Prothalles adventifs nombreux sur un fragment âgé (pi).

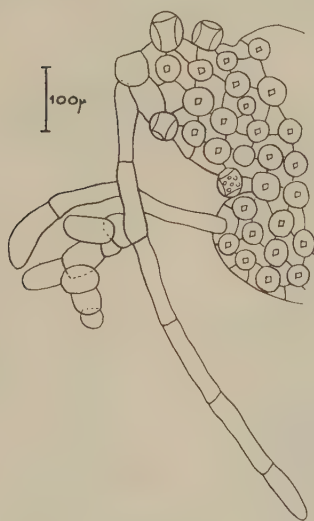


Fig. 104.

Fig. 104. — *Pteris longifolia*. Stades filamenteux issus de cellules du coussinet.

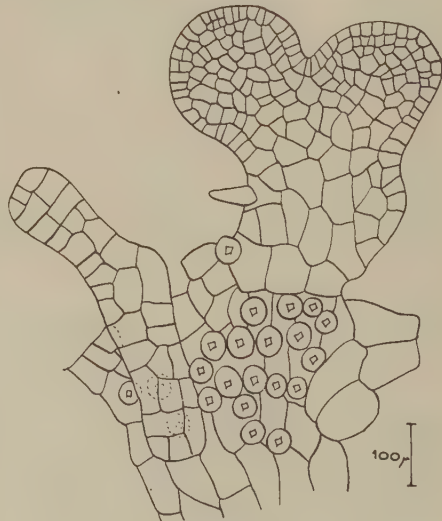


Fig 105.

Fig. 105. — *Pteris longifolia*. Grands prothalles issus de cellules du coussinet.

f. *Fragments de coussinet*. — L'activité régénératrice n'est pas ralentie, même lorsque les cellules appartiennent à la région du prothalle qui a formé les organes reproducteurs.

Il peut y avoir production de longs filaments (fig. 104) ou formation d'emblée d'une lame cellulaire large qui finit par donner un prothalle cordiforme (fig. 105).

g. *Région de l'échancrure des prothalles âgés.* — Le comportement de la

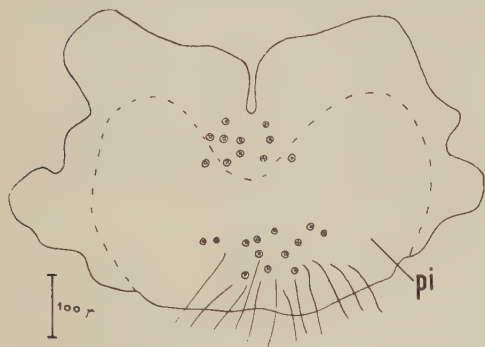


Fig. 106. — *Pteris longifolia*. Prolifération régulière donnant un prothalle cordiforme rajeuni avec nouveaux organes reproducteurs. *pi*, portion initiale.

Fig. 107. — *Pteris longifolia*. Rajeunissement d'un fragment antérieur de prothalle. Prothalles adventifs sur la base parsemée d'îlots de nécrose. *pi*, portion initiale.

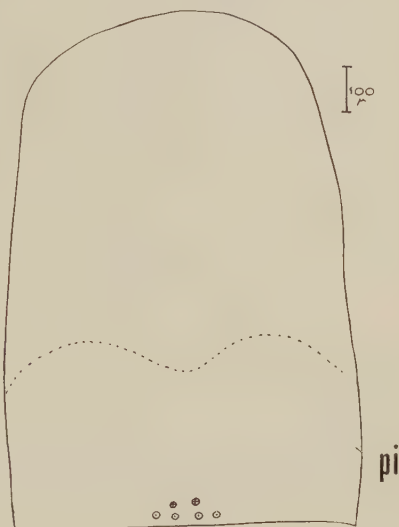


Fig. 107.

région méristématique est assez variable. Nous nous sommes adressés à des prothalles pourvus de nombreux organes reproducteurs.

Un cas très fréquent est représenté sur la figure 106. Des rhizoïdes sont apparus sur la région basale. Puis la zone méristématique a fonctionné, mais en développant régulièrement les ailes. Si bien qu'on obtient un prothalle rajeuni présentant, à une certaine distance de l'ancien coussinet, de nouvelles anthéridies et archégones.

Le fonctionnement a été identique sur la figure 107. Il y a une nouvelle formation d'organes reproducteurs, mais à la base différentes excroissances se sont constituées.

Remarquons qu'à la partie inférieure des îlots de cellules nécrosés sont présents.

Un nouveau mode de prolifération est schématisé sur la figure 108. La

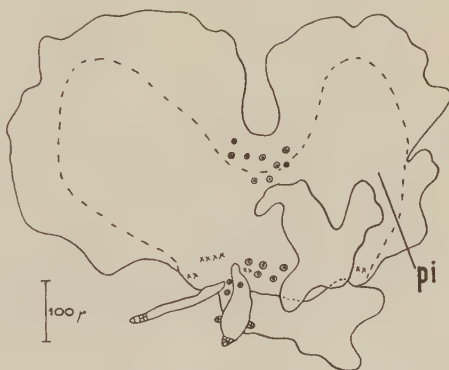


Fig. 108. — *Pteris longifolia*. Effacement de la zone de l'échancrure.

partie échancrée s'est progressivement estompée. On arrive, finalement, à la formation d'une languette de grande taille, non cordée.



Fig. 109. — *Pteris longifolia*. Formation d'une languette à partir de la zone méristématique de l'échancrure.

Le troisième et dernier mode de développement que nous avons observé est le suivant : la zone méristématique de l'échancrure donne une nouvelle lame cordiforme (fig. 109). Il correspond au type décrit par ALBAUM.

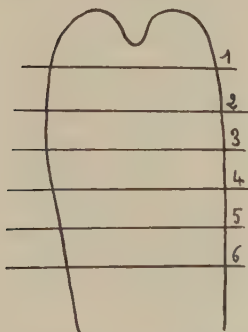


Fig. 110. — *Dryopteris parasitica*. Schéma représentant le mode de section du prothalle.

2° *Dryopteris parasitica*. — Les expériences ont été réalisées sur des prothalles sexués de grande taille, obtenus par culture sur milieu de Knop, en présence du champignon cellulolytique.

Nous en avons fait 6 fragments, selon le schéma suivant (fig. 110), et nous avons observé le devenir de chacun, après l'avoir placé en milieu K + n, en lumière du jour.

a. *Zone de l'échancrure*. — Comment se comporte la portion supérieure qui comprend la zone de l'échancrure ? On constate que la plupart de ces fragments portent, au bout d'un certain temps, des plantules. Les ailes se sont un peu développées. Aucune excroissance ne s'est formée. Il en est de même pour les fragments non fertilisés.



Fig. 111. — *Dryopteris parasitica*. Jeunes prothalles cordiformes développés respectivement à partir d'une cellule marginale et d'une cellule de la surface.

pa, point d'attache. Une bande de cellules nécrosées sépare la zone portant les excroissances de la région de l'échancrure.

Un aspect particulier est montré par la figure 111. Sur l'aile droite, il existe une bande de cellules mortes. On s'aperçoit que la région bien isolée a donné naissance à deux prothalles cordiformes déjà porteurs d'anthéridies. Il apparaît un grand nombre d'anthéridies sur toute la surface de la zone isolée.

b. *Fragments inférieurs*. — Au bout de quelques jours, les fragments nos 2 et 3 portent des prothalles adventifs de taille assez réduite (fig. 112). Par contre, les explantats nos 4, 5 et 6 ont produit des excroissances nombreuses et de grande taille.

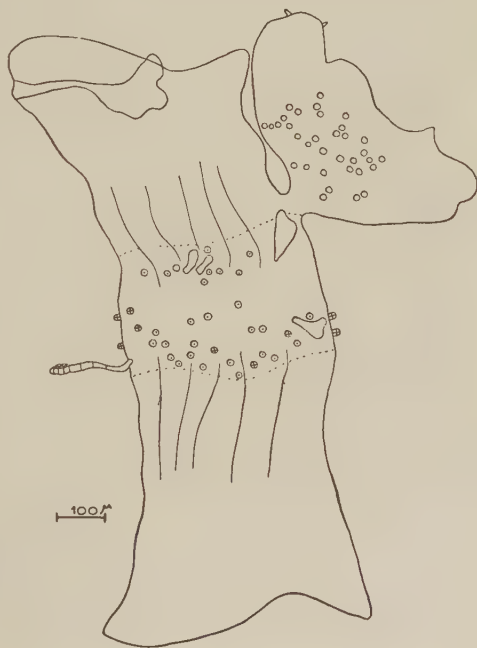


Fig. 112. — *Dryopteris parasitica*. Fragment n° 2 portant des excroissances de taille réduite.

Nous avons vu, en effet, qu'il peut y avoir accroissement régulier du fragment qui porte de nouveaux organes reproducteurs. La zone de l'échancrure peut s'effacer progressivement et conduire ainsi à un aspect rubané du fragment.

ALBAUM avait remarqué que l'existence d'une bande de cellules mortes permettait l'apparition d'excroissances sur la partie isolée. Ce même fait s'est également produit dans nos expériences sur *D. parasitica* (fig. 111) et *P. longifolia* (fig. 107).

3° *Acrostichum aureum*. — Le prothalle d'*Acrostichum aureum* présente une structure assez particulière. Nous avons vu comment se déroulent les diverses étapes de sa croissance et comment la propriété de constituer le prothalle est transférée de la cellule terminale de la spatule à un groupe d'initiales placées latéralement. Nous savons aussi que cette cellule terminale persiste, le plus souvent très reconnaissable, sur une sorte de protubérance située au voisinage du filament initial.

Il nous a semblé intéressant de tenter des expériences de régénération sur le prothalle d'*A. aureum* et d'étudier les potentialités des diverses régions, en nous attachant plus particulièrement à celles qui sont caractéristiques de cette espèce.

Les fragments utilisés sont les suivants :

- portions initiales du filament, comprenant la spore et les premières cellules qui lui font suite ;
- portions quelconques du filament ;
- parties antérieures de spatules jeunes privées de leur extrémité ;
- extrémité de jeunes spatules ;
- protubérances formées de l'ex-cellule terminale, prises sur des prothalles âgés.

Tous les fragments ont été placés en milieu $K + n$ et en lumière continue.

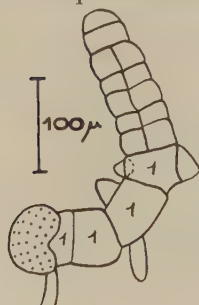


Fig. 113. — *Acrostichum aureum*.
Spatule régénérée à
partir de la qua-
trième cellule.

Portion initiale de filament. — Au cours des germinations d'*A. aureum*, sur milieu $K + n$, en lumière continue, nous avons constaté l'existence-d'un stade filamenteux réduit. Aussi, pour réaliser les expériences de régénération, à partir du filament initial, nous sommes-nous adressée à de vieilles cultures développées sur Knop en présence du champignon cellulolytique ou d'*Alternaria humicola* où le filament est, au contraire, très long. Il a donc été facile de sectionner des frag-

ments de longueur variable. Nous avons suivi leur évolution au sein du milieu le plus favorable : $K + n$ en lumière continue.

La figure 113 représente un filament de 4 cellules dont la dernière s'est divisée un certain nombre de fois pour donner finalement naissance à une spatule d'apparence absolument normale.

On peut voir, de même, sur la figure 114, un prothalle néoformé assez

important. Il résulte de l'activité de la troisième cellule. Mais ici la deuxième cellule émet aussi une ramification.

Il n'appartient pas toujours à la cellule terminale du filament sectionné de reconstituer un prothalle. Ce rôle revient quelquefois à une cellule quelconque. Nous en avons un exemple sur la figure 115.

Lorsque le filament séparé présente une longueur considérable, ce n'est pas seulement un, mais plusieurs prothalles qui sont susceptibles d'apparaître. Celui que nous avons schématisé sur la figure 116 comprend 20 cellules avec un élargissement sur 2 cellules au niveau de la 14^e et de la 15^e. Nous voyons qu'il s'est formé 2 grands prothalles.

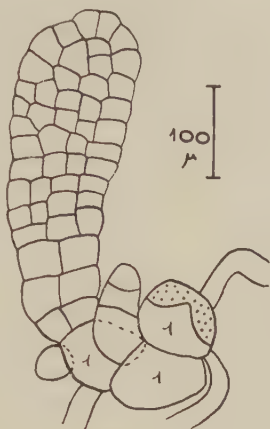


Fig. 114.

Fig. 114. — *Acrostichum aureum*. *Spatule régénérée à partir de la troisième cellule. La deuxième cellule émet aussi une excroissance.*

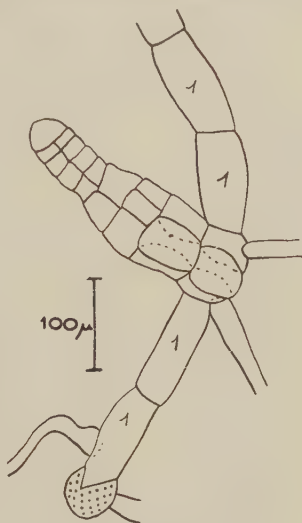


Fig. 115.

Fig. 115. — *Acrostichum aureum*. *Spatule régénérée à partir d'une cellule intermédiaire du filament initial.*

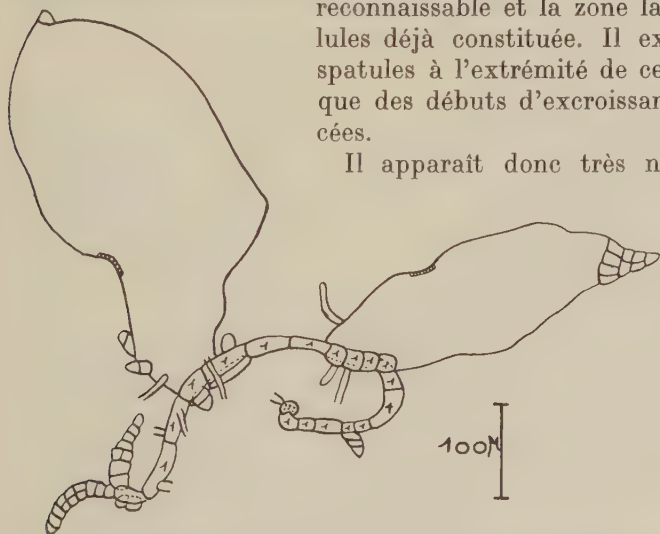


Fig. 116. — *Acrostichum aureum*. *Filament initial très long. Production de nombreuses excroissances.*

Il apparaît donc très nettement ici que le pouvoir de régénération est vraiment extraordinaire. Il faut remarquer aussi que les cellules du filament isolé se comportent absolument comme si elles étaient seules, sans aucune connexion les unes avec les autres.

Ceci est très différent de ce qui se produit dans les conditions naturelles. En effet, lorsque

le filament germinatif est complet, tout se passe comme s'il existait une inhibition provenant de la région terminale, les cellules intermédiaires ne donnent pas d'excroissances. Ceci est à rapprocher du comportement des végétaux supérieurs, où la présence du bourgeon terminal empêche le développement des bourgeons latéraux.



Fig. 117.

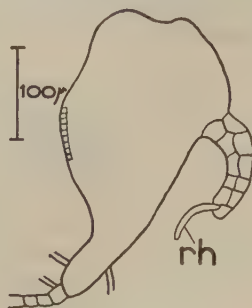


Fig. 118.

Fig. 117. — *Acrostichum aureum*. Portion quelconque de filament régénérant un prothalle.

Fig. 118. — *Acrostichum aureum*. Grand prothalle néoformé à partir d'une fraction de filament. L'excellule terminale porte un rhizoïde (rh).

Portion quelconque du filament. — Les portions de filament découpées à différents endroits se comportent comme les portions initiales. La figure 117 nous montre un début de formation de spatule; la figure 118 représente un prothalle néoformé de taille déjà considérable. La cellule terminale, qui a été déjetée, porte un rhizoïde.

Fragments de prothalles âgés dépourvus de cellules marginales. — Les phénomènes de régénération à partir de fragments découpés à un endroit quelconque du prothalle âgé sont les mêmes que pour *P. longifolia*.

On peut avoir la prolifération d'une cellule ou de plusieurs cellules isolées ou reprise d'activité d'un groupe de cellules contiguës.

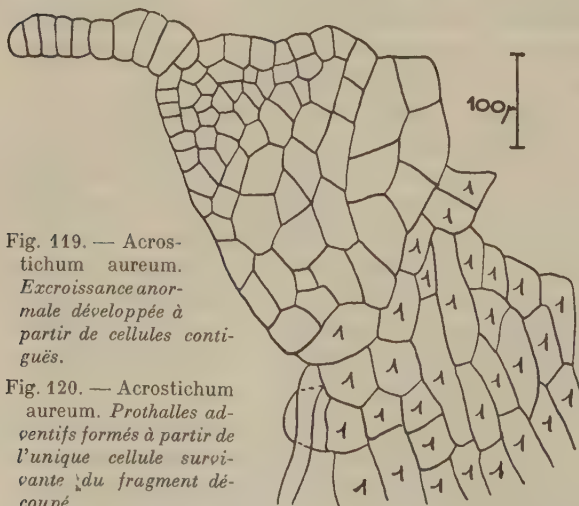


Fig. 119. — *Acrostichum aureum*. Excroissance anormale développée à partir de cellules contiguës.

Fig. 120. — *Acrostichum aureum*. Prothalles adventifs formés à partir de l'unique cellule survivante du fragment découpé.

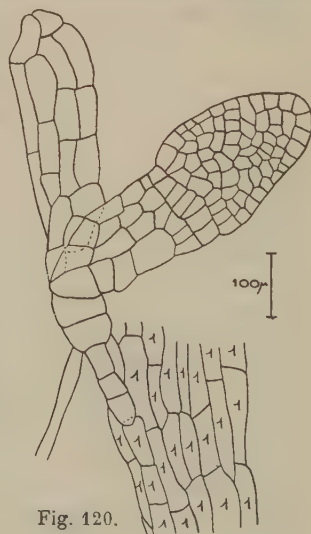


Fig. 120.

La fig. 119 représente une excroissance de forme anormale. Il arrive, parmi les fragments en expérience, que certains ne résistent pas au trau-

matisme et que toutes les cellules, à l'exception d'une seule, dépérissent. La cellule survivante peut donner naissance à une pousse vigoureuse, ce cas est schématisé sur la figure 120.

Les expériences décrites jusqu'à présent ont été réalisées sur des prothalles âgés et le plus souvent sexués. Mais nous avons étudié aussi le phénomène de régénération sur les prothalles jeunes. Nous avons pour cela sectionné de jeunes spatules et nous avons étudié le développement de la partie antérieure : filament initial et portion de spatule, et celui de la partie terminale comprenant la cellule apicale et un groupe de cellules sous-jacentes.

Portions antérieures de jeunes spatules. — Les portions antérieures mises en expérience comprennent la zone latérale de cellules méristématiques. On voit, bientôt, les tronçons de spatule s'accroître fortement (fig. 121). On peut constater aussi que l'augmentation de taille est bien supérieure à celle d'un prothalle entier du même âge.

La figure 122 montre l'aspect ultérieur de ces tronçons lorsque les organes sexuels commencent à se former.

Il ne se produit généralement pas d'excroissances, mais, dans certains cas, cependant, on obtient des formes plus compliquées. La figure 123 montre un prothalle régénéré qui s'est divisé en deux parties, dont l'une présente la cellule terminale caractéristique d'*A. aureum*. Deux cellules terminales typiques sont aussi facilement reconnaissables sur la figure 124. Ici, le fragment antérieur

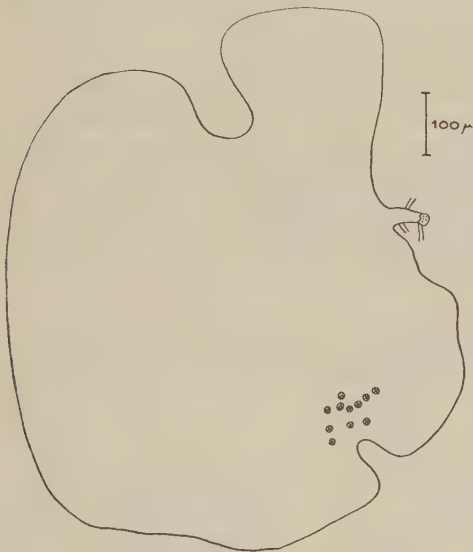


Fig. 122. — *Acrostichum aureum*. Prothalle de grande taille formé à partir de la région antérieure d'une jeune spatule et sur lequel les organes sexuels commencent à se former.

de la spatule sectionnée donne naissance, en quelque sorte, à deux prothalles accolés.

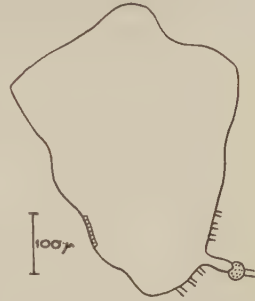
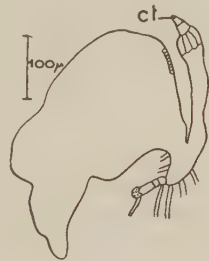


Fig. 121. — *Acrostichum aureum*. Prothalle élargi formé à partir de la région antérieure d'une jeune spatule.

Fig. 123. — *Acrostichum aureum*. La partie antérieure de la jeune spatule a produit deux lames cellulaires dont l'une présente une cellule terminale bien reconnaissable (ct).



Portions terminales de jeunes spatules. — Le développement de la portion terminale présente quelques variantes. On obtient, très souvent, de grandes lames cellulaires massives où la cellule terminale est reconnais-

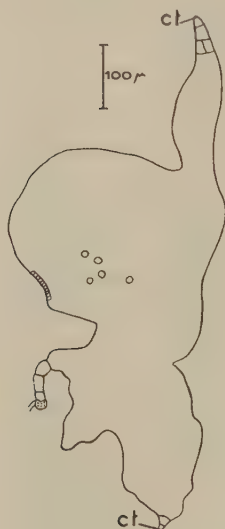


Fig. 124.

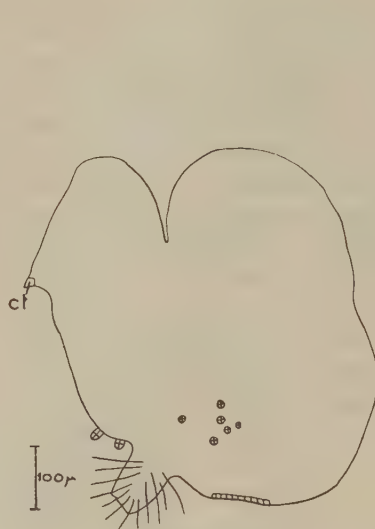


Fig. 125.

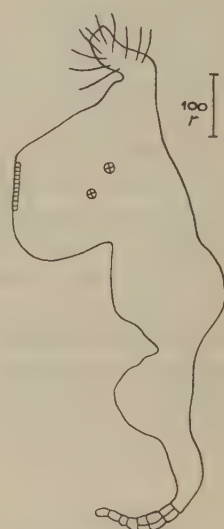


Fig. 126.

Fig. 124. — *Acrostichum aureum*. Prothalle formé à partir de la portion antérieure d'une jeune spatule. Deux cellules terminales (ct) sont nettement visibles.

Fig. 125. — *Acrostichum aureum*. Grand prothalle formé à partir de la portion terminale d'une jeune spatule. Cellule terminale (ct) très visible.

Fig. 126. — *Acrostichum aureum*. Prothalle allongé formé à partir de la portion terminale d'une jeune spatule.

sable. On voit aussi très bien se constituer la zone des cellules méristématiques (fig. 125). Quelquefois ces lames cellulaires sont beaucoup plus

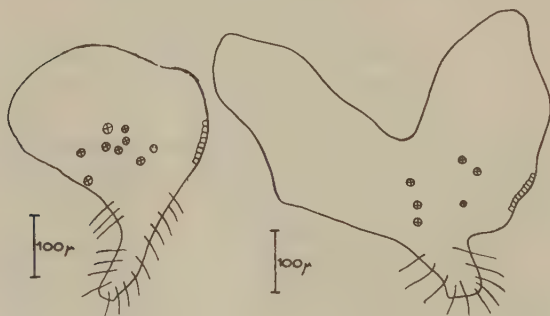


Fig. 127.

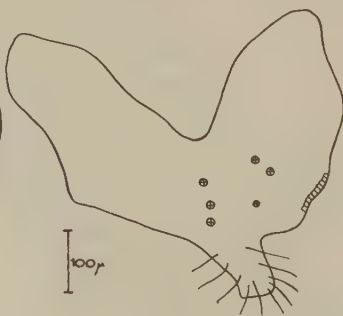


Fig. 128.

Fig. 127. — *Acrostichum aureum*. Prothalle arrondi formé à partir de la portion terminale d'une jeune spatule. Pas de cellule terminale reconnaissable.

Fig. 128. — *Acrostichum aureum*. Prothalle échancré formé à partir de la portion terminale d'une jeune spatule. Pas de cellule terminale visible.

allongées (fig. 126), arrondies (fig. 127) ou échancrées sans cellule terminale visible (fig. 128). Dans quelques cas également, des expansions latérales apparaissent ainsi que diverses excroissances produites par des cellules de

la surface (fig. 129). Le prothalle représenté sur la figure 130 porte une expansion latérale assez importante.

Les différentes parties d'un prothalle jeune peuvent donc se comporter de manière différente. Ceci est peut-être déterminé par l'importance de la zone méristématique existant au départ. Mais, dans tous les cas, il y a une tendance certaine à reconstituer un prothalle entier.

Protubérance comprenant l'ex-cellule terminale de la spatule. — La portion dont il était le plus intéressant de suivre l'évolution, après qu'elle ait été détachée du prothalle, nous a paru être la protubérance formée par l'ex-cellule terminale et les cellules sous-jacentes. Cette cellule, après la formation de la zone méristématique latérale, cesse de fonctionner, mais persiste, le plus souvent, très facilement reconnaissable, sur les prothalles adultes.

Nous avons donc détaché quelques-uns de ces « appendices » cellulaires et nous avons étudié les phénomènes de régénération qu'ils présentent.

Ces extrémités, dans lesquelles les mitoses ont cessé depuis longtemps, ne tardent pas à manifester une nouvelle activité. Quelquefois, seule l'apicale recommence à fonctionner (fig. 130). Dans d'autres, les cellules sous-jacentes produisent elles aussi des excroissances (fig. 131, 132,

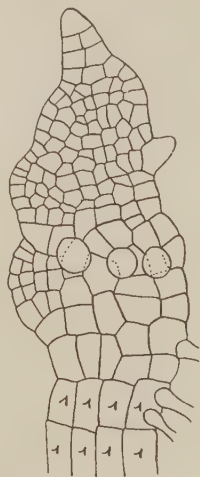


Fig. 129. — *Acrostichum aureum*. Portion terminale d'une jeune spatule. Production d'excroissances à partir d'une cellule marginale et de plusieurs cellules de la surface.

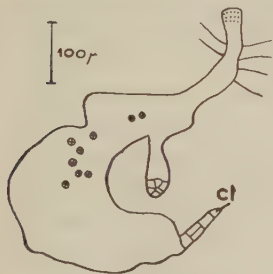


Fig. 130.

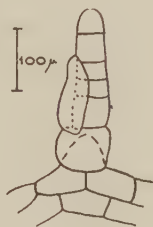


Fig. 131.



Fig. 132.

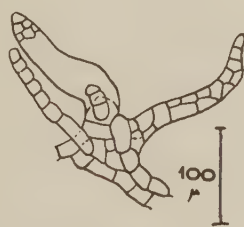


Fig. 133.

Fig. 130. — *Acrostichum aureum*. Prothalle issu d'une portion terminale de jeune spatule; expansion latérale assez importante.

Fig. 131. — *Acrostichum aureum*. Protubérance comportant l'ex-cellule terminale qui recommence à se diviser. Une excroissance apparaît sur une cellule de la file qu'elle a produite.

Fig. 132. — *Acrostichum aureum*. Protubérance comportant l'ex-cellule terminale. La cellule terminale et les cellules sous-jacentes se divisent.

Fig. 133. — *Acrostichum aureum*. Excroissances nombreuses formées à partir de la protubérance comportant l'ex-cellule terminale.

133). Si l'on suit le développement ultérieur, on voit qu'il s'est produit de grands prothalles (fig. 134).

Nous pouvons donc conclure que la cellule terminale, longtemps après qu'elle a cessé de fonctionner, est capable de redonner un nouveau prothalle. Elle se comporte comme n'importe quelle autre cellule d'un fragment sectionné.

En examinant les résultats de toutes les expériences décrites ci-dessus, et en nous rappelant les nombreuses circonstances qui entraînent la formation de pousses adventives sur des prothalles non découpés (voir p. 76), nous pouvons affirmer que la capacité de régénération des prothalles de Fougères est très grande. Toutes les cellules apparaissent comme virtuellement capables de donner naissance à un nouveau prothalle, c'est-à-dire de manifester à tout moment les potentialités embryonnaires.



Fig. 134. — *Acrostichum aureum*. Prothalle déjà important formé à partir de la protubérance comportant l'ex-cellule terminale.

4° Interprétation des phénomènes de régénération. — Les auteurs qui ont décrit les phénomènes de régénération n'en ont pas recherché la cause.

GÆBEL, cependant, envisage le rôle des régions méristématiques sur la morphogenèse. Il considère qu'elles captent, à leur profit, les matières nutritives puisées par la plante. Les autres parties ne recevraient pas un apport alimentaire suffisant pour croître d'une façon désordonnée.

Mais il faut attendre les travaux d'ALBAUM pour trouver une interprétation appuyée sur des faits précis. Cet auteur explique par l'action d'« hormones » la formation ou l'inhibition des pousses adventives, que les prothalles aient été sectionnés ou non. Nous avons vu qu'il avait réussi à extraire par l'éther une substance de croissance, l'acide indole-acétique, de la zone de l'échancrure et qu'il avait obtenu la courbure d'un coléoptile d'avoine à l'aide d'un bloc de gélatine sur lequel il avait d'abord déposé la partie apicale de prothalles de *P. longifolia*. De même, il inhibe par l'acide indole-acétique la production des pousses adventives et montre que la diffusion de la substance de croissance est polarisée et s'effectue de haut en bas.

Voici l'interprétation qu'il donne des phénomènes de régénération observés par les autres auteurs.

1. Lorsque les nouvelles pousses apparaissent à la base de prothalles âgés, le phénomène est peut-être dû à une production insuffisante ou à un arrêt complet de la formation de la substance de croissance. Cette substance, n'étant plus envoyée vers le bas, ne pourrait, par conséquent, empêcher le développement des pousses adventives.

2. Dans le cas des prothalles serrés, donc plus ou moins filamenteux, ALBAUM pense que les filaments seraient incapables de produire l'hormone.

3. Il en serait de même lorsque la lumière est insuffisante.

4. Les radiations de différentes longueurs d'onde pourraient également influencer sur la production et la répartition de l'hormone.

5. Les rayons X inactiveraient la substance de croissance.

6. Lorsque les prothalles sont immergés, la quantité d'hormone diffusée au dehors laisserait dans les cellules une concentration insuffisante.

7. L'éther, ainsi que l'a montré VAN DER WEIG, abolit tout transport polarisé de l'hormone. Il peut aussi, en tuant les cellules méristématiques (HEILBRONN), détruire le centre de production.

8. ISABURO NAGAI a montré que, dans le cas des prothalles plasmolysés, les plasmodemes sont brisés. ALBAUM pense, de ce fait, qu'il y aurait peut-être gêne dans la diffusion.

Ces explications ne rendent peut-être pas compte de tout l'ensemble du problème, mais elles ont l'avantage de réunir un groupe de faits qui paraissent, au premier abord, bien éparpillés et de les rendre intelligibles.

Les expériences d'ALBAUM nous semblent d'ailleurs très en faveur du rôle primordial joué par les « hormones de croissance » au cours des phénomènes de régénération.

Les résultats que nous avons obtenus vont également dans ce sens. Rappelons-les brièvement.

a. Nous avons constaté, chez *D. parasitica*, qu'il apparaît des prothalles adventifs lorsqu'une portion de l'aile est séparée de la zone de l'échancrure par une bande de cellules mortes (fig. 114). On peut imaginer que cette bande s'oppose à la diffusion de l'hormone, qui ne serait plus alors en assez forte concentration dans la partie isolée pour s'opposer à la formation des excroissances.

b. Sur la partie apicale échancrée et séparée du reste du prothalle nous avons constaté, chez *P. longifolia* (fig. 107), la présence de nombreuses pousses surnuméraires. Ces excroissances se sont développées seulement à la base du fragment, qui est tout parsemée d'ilots de nécrose.

c. Nous avons vu encore que les extrémités de jeunes spatules isolées d'*A. aureum* se développent en redonnant un nouveau prothalle et que les excroissances n'y sont pas fréquentes.

Par contre, si nous nous adressons à des « protubérances » âgées, l'évolution est très différente. Ces régions ont cessé très tôt de participer à la formation du prothalle. Autrement dit, leur activité de zone méristématique est éteinte depuis longtemps, entraînant l'arrêt de la production d'hormones. Les protubérances ne renfermant pas plus alors de substances de croissance que des fragments quelconques du prothalle, ceci expliquerait le phénomène d'anarchie cellulaire observé. Non seulement l'exculture terminale est capable de redonner un prothalle, mais toutes les cellules sous-jacentes peuvent également être le point de départ d'une pousse adventive.

Tous ces faits plaident en faveur du rôle important que joueraient les substances de croissance au cours des phénomènes de régénération. Les prothalles adventifs n'apparaîtraient qu'à partir du moment où le taux de ces « hormones » s'abaisse au-dessous d'un certain seuil.

5° Rôle des hormones de croissance au cours du développement. — Leur influence doit être, à fortiori, primordiale, tout au long du développement. Voyons comment la notion de substance de croissance peut nous permettre d'interpréter la succession des différents stades morphologiques, c'est-à-dire les étapes progressives de l'organisation du prothalle.

La formation normale du gamétophyte dépend, avant tout, de la constitution d'une apicale, cellule mère de la région méristématique. Mais nous avons vu, au cours de l'étude des facteurs de la morphogenèse, que l'apparition des premiers recloisonnements obliques et longitudinaux dépend grandement du milieu.

Chez *P. longifolia*, ils apparaissent très rapidement dans les solutions renfermant, à la fois, des nitrates et des sels d'ammonium, beaucoup moins rapidement dans le Knop.

Ils ne se produisent dans aucun milieu minéral chez *A. aureum*, lorsque les cultures sont placées en lumière ordinaire. Mais ils se déclenchent très vite en lumière continue. Ils se produisent aussi dans les milieux minéraux additionnés de pénicilline ou après introduction d'*Alternaria humicola* ou du champignon cellulolytique, et ceci en lumière ordinaire.

D. setigera est l'espèce la plus exigeante, car elle demande, pour former à coup sûr une région méristématique, la présence de bactéries ou de champignons.

Comment expliquer ces différences de comportement ? On peut penser que le déclenchement des divisions obliques et longitudinales est lié à la présence, dans le jeune prothalle, d'une (ou plusieurs) substances de croissance d'un type particulier et que celle-ci doit atteindre un seuil donné pour que son activité se manifeste. Le déterminisme de ces divisions serait donc très différent de celui des premiers cloisonnements transversaux du filament germinatif.

Considérons le cas de *P. longifolia*. Dans cette espèce, la constitution de la région méristématique s'avère facile, au sein de milieux minéraux et en lumière du jour. On peut penser que, dans ces conditions, les cellules du filament initial sont capables de synthétiser la ou les substances de croissance qui permettent l'établissement du stade ultérieur de jeune spatule. La dose nécessaire étant atteinte, les recloisonnement se produisent. Peut-être même pourrions-nous penser qu'ils commencent d'apparaître dans les cellules dont l'activité synthétique a été la plus intense, ce qui permettrait d'expliquer les niveaux très variables où se forment les premières cloisons.

Le comportement d'*A. aureum* montre de grandes différences. Nous savons qu'en milieux minéraux aseptiques et en lumière ordinaire cette espèce ne dépasse pas le stade filamenteux, mais que le prothalle, dans ces mêmes milieux placés en lumière continue, présente un développement normal. Il est permis de penser que les cellules du filament ne possèdent pas la capacité de synthèse des « substances de croissance » en lumière ordinaire, mais qu'elles l'acquièrent avec un éclairage plus intense.

Signalons, à titre de comparaison, que la lumière est essentielle pour la

formation de l'auxine, chez les plantes à graines étudiées par THIMANN, SKOOG, NAVEZ et VAN OVERBEEK.

L'hypothèse sur le rôle des « hormones » paraît valable si l'on se rappelle que l'adjonction de Pénicilline aux milieux minéraux permet le développement d'*A. aureum*. Or l'on sait que cet antibiotique se comporte, pour un certain nombre de plantes supérieures, comme une hormone de croissance.

Elle est encore rendue vraisemblable par le fait que la présence d'*Alternaria humicola* ou du champignon cellulolytique rend possible la constitution du prothalle sur des milieux minéraux en lumière ordinaire. Ces organismes fabriquent, sans doute, une ou plusieurs substances comparables aux substances de croissance nécessaires à *A. aureum*, ou du moins voisines par leurs propriétés physiologiques. Il se peut aussi qu'ils ne fournissent que certaines fractions importantes de la molécule, celles-ci étant ensuite combinées à l'intérieur des cellules.

Chez *D. setigera*, une légère amélioration du développement est obtenue par culture sur milieux à base de nitrates et de sels d'ammonium, en lumière continue. Dans ces conditions, la synthèse de la substance de croissance s'effectuerait en faible proportion. Mais le déroulement normal de la morphogenèse n'est obtenu, vraiment, qu'en présence de bactéries ou de champignons. Ici encore, ces organismes inférieurs doivent fournir au prothalle sinon la substance de croissance toute faite, du moins des matériaux qu'il assemblera ou modifiera.

La difficulté plus ou moins grande qu'on rencontre à obtenir, *in vitro*, des prothalles typiques proviendrait donc de différences dans la capacité de synthèse des « substances de croissance ». Quelle est la nature de ces substances ? Seules des analyses biochimiques permettraient de les identifier.

Les substances susceptibles d'agir sur la division cellulaire sont d'ailleurs assez nombreuses et l'on en découvre fréquemment de nouvelles. KOVOOR, SETWARD, SIMMONDS, NETIEN, BEAUCHESNE, NITSCH ont montré que divers extraits végétaux sont susceptibles d'agir sur la croissance de tissus cultivés *in vitro*. Citons-en quelques-uns : les extraits aqueux d'albumen de graines de *Borassus flabellifer*, d'arilles de graines de *Passiflora edulis*, d'embryons d'*Allanblackia floribunda*, d'huile d'*Elaeis guineensis* ; les jus de tomate, raisin, orange, pêche, *Artocarpus integrifolia*, *Anona muricata* ; le liquide intracalical de *Spathodea campanulata*.

M^{me} GUYONNEAU-BESSET, utilisant trois tests, croissance des tissus de topinambour et de crown-gall de Scorzonère, test radis, observent que ces substances agissent différemment.

Lorsqu'elles sont actives sur les deux premiers ou sur l'un de ces deux, elles ont aussi une influence sur la plantule de radis.

Mais cet auteur a mis en évidence quelques particularités. Ainsi, l'extrait d'*Allanblackia*, actif sur les tissus de Topinambour et de crown-gall de Scorzonère, n'entraîne aucune prolifération des cellules des plantules de radis. Par contre, le jus de pêche, qui ne provoque aucune croissance des

deux tissus que nous venons de citer, amène le recloisonnement actif des cellules cambiales des hypocotyles de radis.

De nombreuses recherches restent donc à entreprendre sur la nature et le mode d'action des substances de croissance.

6° Signification du stade filamenteux. — Revenons maintenant à l'interprétation que nous pouvons donner du développement des prothalles de Fougères, grâce à l'hypothèse sur les hormones de croissance, et reconsidérons, en particulier, la signification du stade filamenteux.

Nous avons vu que, pour certains auteurs, il représente un caractère adaptatif et que, pour d'autres, il serait un rappel de la structure ancestrale. Pour notre part, nous nous rallions à l'interprétation phylogénétique.

Cependant, celle-ci, à notre avis, ne rend compte que d'une part de la réalité et doit être complétée par une interprétation physiologique.

Nous savons que le développement du prothalle s'effectue en plusieurs étapes. Dans la première, il se produit seulement des divisions transversales. Dans une seconde, des recloisonnements obliques et longitudinaux apparaissent et se produisent dans un même plan. Enfin une dernière étape voit les divisions s'effectuer dans les trois dimensions.

L'ensemble des résultats obtenus au cours de nos expériences nous a suggéré l'idée que le déclenchement des divisions obliques et longitudinales est sous la dépendance de substances de croissance.

Si cette (ou ces) substance n'est pas synthétisée par le gamétophyte, parce que celui-ci se trouve dans un milieu inadéquat ou parce qu'il est incapable de la fabriquer lui-même, les divisions longitudinales et obliques ne se produisent pas.

Le stade filamenteux, reste de la structure ancestrale, serait aussi la traduction morphologique d'une teneur insuffisante de l'« hormone » dans le jeune prothalle. Ou, en d'autres termes, il serait la manifestation extérieure visible d'un fait physiologique.

On peut supposer qu'au cours des temps les phénomènes évolutifs se sont passés ainsi. L'ancêtre algal était filamenteux. A un moment donné, une mutation s'est produite, qui a entraîné la production des substances responsables des recloisonnements obliques et longitudinaux.

Ceci nous permet d'envisager, sous un angle nouveau, la signification du prothalle des *Schizea*. Le prothalle de ces Fougères est uniquement filamenteux. Les archégones elles-mêmes, qui, dans les autres familles, sont placées sur des coussinets à plusieurs assises de cellules, sont ici portées directement sur les filaments. THOMAS considère les *Schizea* comme une forme archaïque qui aurait persisté jusqu'à nous.

On peut penser que l'évolution, dans leur cas, a été bloquée et que les *Schizea* représentent un type primitif fixé n'ayant pas acquis la capacité de synthèse des substances qui déclenchent les recloisonnements obliques et longitudinaux, ou celle de réagir à celles qu'ils pourraient trouver dans le sol.

Les Hyménophyllacées, dont le prothalle est formé de longs filaments

mais aussi de lames cellulaires, formeraient un terme de passage, un stade intermédiaire dans l'évolution.

L'hypothèse sur le rôle des substances de croissance permet aussi d'interpréter toutes les anomalies du développement. On peut dire que la grande plasticité des prothalles aux conditions extérieures résulterait de la facilité avec laquelle peuvent être troublées la production et la diffusion de ces « hormones ».

Nous avons vu que toutes les cellules végétatives possèdent virtuellement les mêmes potentialités que la première cellule chlorophyllienne

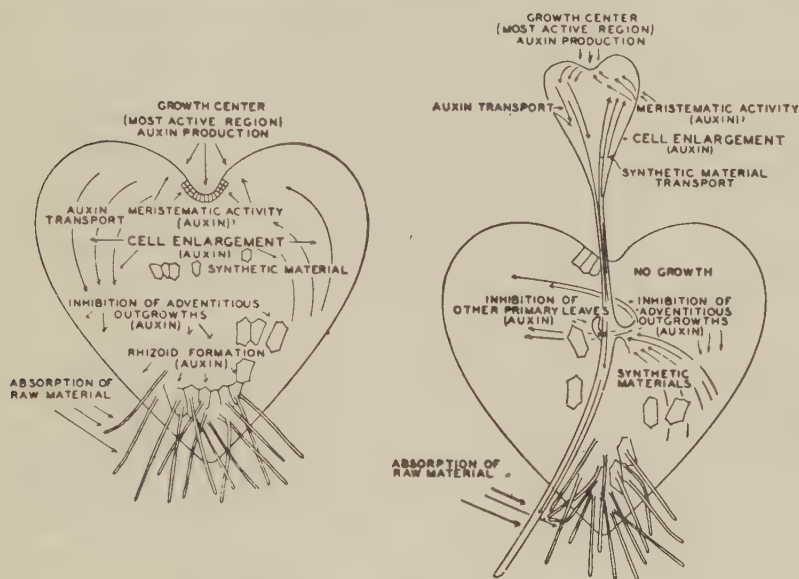


Fig. 135. — *Pteris longifolia*. Schéma montrant le rôle hypothétique des hormones au cours du développement des prothalles. (D'après ALBAUM.)

émise, lors de la germination. Dans les conditions normales, celles-ci ne se manifesteraient pas, à cause d'une concentration suffisante des « hormones » à travers le gamétophyte.

Le prothalle serait donc, à notre avis, un organisme très peu différencié dont toute l'organisation et la coordination reposeraient sur la production et la répartition d'« hormones » à travers l'ensemble.

On pourrait alors conclure que l'étude des facteurs morphogénétiques se ramènerait, en définitive, à l'étude des conditions optima de la production et de la répartition des « hormones » organisatrices au sein du prothalle.

Nous donnons, pour terminer, un schéma d'ALBAUM sur le rôle présumé des substances de croissance (fig. 135).

Cet auteur schématise la diffusion de haut en bas de l'auxine produite dans la zone de l'échancrure du prothalle. Il lui attribue un rôle dans

l'élargissement des cellules, l'inhibition des excroissances et la formation des rhizoïdes.

Il représente, également, l'action de l'auxine sécrétée par la région méristématique de la première feuille. A ce moment, la zone de l'échancrure du prothalle ne produit plus de substances de croissance. L'apport d'auxine venant de la jeune feuille inhiberait alors la formation des excroissances.

Nous pensons que ce schéma, conçu avant les nombreux travaux réalisés sur les substances capables d'agir sur la division cellulaire, ne rend probablement pas compte de toute la réalité.

Mais il nous semble valable si l'on remplace le terme d'auxine par celui, beaucoup plus général, de substances organisatrices.

7° Conclusions. — 1. Nous pensons que des « hormones de croissance » régulent l'organisation et la coordination du prothalle et que la moindre perturbation dans la production ou la répartition de ces substances se traduit par des anomalies ou l'apparition de pousses adventives.

2. Nous croyons aussi que les potentialités embryonnaires, toujours présentes dans les cellules du prothalle, sont inhibées par l'action des substances organisatrices.

3. Nous ne savons si ces substances exercent une action sur la formation des organes sexuels. Il semble seulement qu'une faible teneur favorise l'apparition des anthéridies. Elles sont, en effet, très nombreuses sur les prothalles filamenteux anormaux ainsi que sur les régions isolées de la région productrice d'hormones, par des bandes de cellules nécrosées (fig. 111). En ce qui concerne les archégones, nous pouvons tout au plus remarquer que leur constitution est en rapport direct avec la présence du coussinet, c'est-à-dire avec la phase du développement qui comporte des recloisonnements dans les trois dimensions, cette phase étant peut-être sous la dépendance d'une substance de croissance particulière.

4. La capacité de synthèse de ces substances est certainement variable d'une espèce à l'autre. Ceci ne paraît pas une simple vue de l'esprit. Des arguments sérieux sont en faveur de cette interprétation. Ils sont tirés d'observations sur le comportement des espèces étudiées.

a. Les milieux minéraux que nous avons employés sont inadaptés aux besoins de *D. setigera*. Mais le développement devient satisfaisant si l'on introduit des micro-organismes.

b. Les prothalles de *D. parasitica*, cultivés sur milieu de Knop, sont atypiques, mais ils prennent l'aspect cordiforme caractéristique lorsque le champignon cellulolytique est présent dans la solution nutritive.

c. Le développement d'*A. aureum*, insignifiant en lumière ordinaire, est rendu possible lorsque des champignons végètent en commun avec les prothalles.

d. De même, l'addition de Pénicilline G rend la croissance d'*A. aureum* possible et même assez active en lumière ordinaire.

e. Le développement de *P. longifolia*, qui peut s'effectuer dans tous les milieux, est amélioré par la présence de micro-organismes.

On est donc amené à conclure que les milieux d'abord défectueux sont enrichis d'un ou plusieurs facteurs indispensables à la croissance. Si l'interprétation des faits que nous donnons est exacte, *P. longifolia* peut donc synthétiser ces facteurs, quelle que soit la solution nutritive employée. *A. aureum* ne les produit pas en lumière du jour, mais y parvient en lumière continue. Par contre, *D. setigera* et *D. parasitica* sont pratiquement incapables de les fabriquer. Les espèces non « autographes » vis-à-vis des substances de croissance les retirent, sans aucun doute dans les conditions naturelles, de l'activité de la microflore du sol.

5. Nous n'avons aucune idée précise sur la nature des substances organisatrices. Il semble que plusieurs puissent jouer ce rôle. Les faits suivants conduisent à le penser :

a. Des substances actives diverses sont synthétisées par de nombreux micro-organismes, à partir d'acides aminés variés ou de certains composés azotés minéraux.

b. Des extraits végétaux variés, ainsi que l'a montré Kovoov, agissent sur la division cellulaire (voir p. 99).

c. La Pénicilline G (ou ses produits de décomposition) exerce elle aussi une action favorable sur le développement d'*A. aureum*.

d. Au cours de nos expériences, nous voyons que des micro-organismes très différents sont susceptibles d'influer sur le développement des prothalles. Ceci conduit à penser que les substances responsables des recloissements obliques et longitudinaux sont peut-être assez banales.

6. L'étude des facteurs morphogénétiques reviendrait, finalement, à mettre en évidence les conditions optima de la production des « hormones de croissance » et de leur répartition à travers le prothalle.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Nous avons essayé, au cours de nos recherches, de déterminer quelques-uns des facteurs qui interviennent dans la morphogenèse des prothalles de Fougères. Nous nous sommes adressés à plusieurs espèces de Polypodiacées, *Pteris longifolia*, *Dryopteris setigera* et *Acrostichum aureum*, dont nous avons cherché à obtenir, *in vitro*, un développement identique à celui observé dans la nature. Nous avons, pour cela, utilisé des milieux variés et les résultats obtenus ont été très instructifs.

Nous donnons, tout d'abord, les grands points qui se dégagent de nos investigations. Nous reprendrons, ensuite, pour chacun d'eux, les conclusions auxquelles nous sommes parvenue.

I. — Nous avons pu préciser l'action de certains facteurs morphogénétiques déjà connus : lumière, richesse du milieu nutritif, et mettre en évidence le rôle de quelques autres : oligo-éléments, sels d'ammonium, micro-organismes, au cours de la germination et du développement.

Nous avons montré que tous ces facteurs sont importants, mais qu'ils agissent toujours en se limitant ou en se renforçant mutuellement. Il y a synergie des facteurs.

II. — Nous avons vu qu'il existe des différences dans le comportement des espèces. Certaines se montrent plus exigeantes que d'autres sur les conditions de culture.

Pour chaque espèce, la croissance normale, *in vitro*, ne s'effectue que dans des conditions bien déterminées. La moindre modification dans le milieu qui la rend possible, entraîne l'apparition d'anomalies.

III. — Nous avons observé un nouveau mode de formation de prothalle chez les Polypodiacées (*A. aureum*). Il est caractérisé par le fait qu'il ne se constitue jamais de cellules apicale typique triangulaire, aux dépens de la cellule terminale du filament germinatif.

IV. — Nos expériences sur la régénération des prothalles ont confirmé l'opinion émise par les anciens auteurs, selon laquelle toutes leurs cellules sont virtuellement capables de reprendre les potentialités embryonnaires.

V. — Nous avons recherché quelle pouvait être la cause profonde, responsable de l'organisation du prothalle et capable d'expliquer la production d'anomalies au cours du développement, ainsi que la formation des prothalles adventifs, dans les expériences de régénération. Certaines observations nous ont suggéré qu'un rôle primordial est rempli par des « hormones ».

I. — Facteurs morphogénétiques.

Germination. — Les auteurs ont montré que les spores germent à la lumière, en présence d'oxygène et à un degré suffisant d'humidité.

Nous pouvons ajouter les précisions suivantes sur les espèces que nous avons étudiées.

1° Sur eau distillée, *A. aureum* germe en donnant le rhizoïde et un filament de une ou deux cellules. *P. longifolia* et *D. setigera* émettent le rhizoïde, la première cellule verte fait rarement saillie à l'extérieur de la spore. Si le séjour en eau distillée se prolonge, on observe souvent, chez les deux dernières espèces citées, la sortie d'un second rhizoïde.

2° L'émission de la première cellule chlorophyllienne, chez *P. longifolia* et *D. setigera*, est sous la dépendance de certains facteurs. Elle nécessite, obligatoirement, la présence d'une substance azotée, nitrates, nitrites ou sels d'ammonium. D'autres sels ne renfermant pas d'azote, n'ont montré aucun pouvoir.

3° La lumière continue accélère la germination des trois espèces étudiées, excepté lorsque les milieux renferment une trop forte dose d'oligo-éléments (1,5 cm³ de la solution de Berthelot par litre de milieu).

Développement du prothalle. — FACTEURS PHYSIQUES ET CHIMIQUES. — Nous savons que les facteurs morphogénétiques agissent toujours en se limitant ou en se renforçant mutuellement. Le phénomène est particulièrement net dans les expériences sur *P. longifolia*, faisant intervenir, à la fois, la concentration du milieu de Knop, la teneur en oligo-éléments et l'action de la lumière. Voici quels sont les résultats obtenus.

1° Le développement est beaucoup plus rapide en lumière continue qu'en lumière ordinaire. On peut suivre, dans les milieux les plus favorables ($K + n$, $K + 2n$), l'apparition accélérée des différents stades de la morphogenèse des prothalles, et on obtient, au bout de trente-cinq à quarante jours, une multitude de plantules. Celles-ci, en lumière du jour, n'apparaissent qu'entre trois mois et demi et cinq mois.

2° Mais, si la lumière continue exerce, conjointement avec les éléments métalliques de la solution de Berthelot (0,5 et 1 cm³ par litre), une action puissante sur la croissance de *P. longifolia*, cette action est contrôlée par la concentration du milieu. La lumière continue agit fortement lorsque les cultures se développent dans les milieux à base de Knop non dilué, plus faiblement dans ceux constitués à base de Knop au 1/4, plus faiblement encore avec le Knop au 1/8.

3° L'action de la lumière continue est mise en échec lorsque la teneur en oligo-éléments dépasse l'optimum. Ainsi, la dose de 1,5 cm³ par litre retarde la croissance, dans les milieux $K + 3n$ et $K \frac{1}{4} + 3n$, et empêche la germination dans le milieu $K \frac{1}{8} + 3n$.

4° La teneur optimum en oligo-éléments est variable suivant la concentration du milieu. Elle est contenue dans 0,5 cm³ de la solution de Berthelot

pour le milieu de Knop non dilué; elle passe à 1 cm³ lorsqu'il est dilué au 1/4. Au-delà, il se produit un phénomène curieux; le seuil de toxicité, avec un milieu très peu concentré, Knop au 1/8, est très vite atteint. Déjà une dose de 1 cm³ par litre retarde beaucoup le développement, dans le milieu K 1/8 + 2 n.

5° Les oligo-éléments introduits en trop forte dose (1,5 cm³ de la solution de Berthelot par litre de milieu) provoquent l'apparition d'anomalies. Les cellules apicale ou marginale redonnent naissance à un filament, puis à une spatule.

6° L'action des oligo-éléments sur la formation des anthéridies, tant en lumière continue qu'en lumière du jour, semble très nette. Les anthéridies sont, en effet, plus nombreuses dans les milieux qui en sont les plus richement pourvus (1 cm³ et 1,5 cm³).

7° L'absence d'oligo-éléments, en lumière continue, et dans les milieux à base de Knop, réduit la végétation. Leur absence se fait beaucoup moins sentir en lumière du jour.

8° La différence de vitesse de croissance que l'on observe entre les trois groupes de milieu à base de Knop, de Knop au 1/4 et au 1/8, s'accroît en lumière continue tandis qu'elle est beaucoup moins nette en lumière du jour.

9° La lumière continue provoque, assez souvent, une augmentation de la taille des cellules et des chloroplastes.

10° La lumière continue entraîne l'apparition de rhizoïdes plus nombreux, certains d'entre eux pouvant contenir quelques chloroplastes.

11° En lumière continue, le phénomène de nécrose apparaît au bout de deux mois, dans les milieux renfermant des oligo-éléments, alors que les milieux qui n'en renferment pas : K, K, 1/4, K 1/8, gardent des cultures très chlorophylliennes.

12° Des résultats très semblables à ceux que nous avons vus lorsque *P. longifolia* se développe en lumière continue, s'observent aussi dans les mêmes conditions expérimentales, chez *A. aureum* :

- croissance accélérée dans les milieux K + n et K + 2 n ;
- retard dans le milieu K + 3 n ;
- influence défavorable des milieux très dilués ;
- nombreuses anomalies dans tous les milieux non adaptés aux besoins du prothalle ;
- mais l'optimum en oligo-éléments, pour le milieu K 1/4, est de 1,5 cm³ par litre, au lieu de 1 cm³, en ce qui concerne *P. longifolia*, et la germination n'est pas empêchée dans le milieu K 1/8 + 3 n. Le seuil de toxicité serait donc moins vite atteint chez *A. aureum* que chez *P. longifolia*.

13° En plus de la lumière, des oligo-éléments et de la concentration du milieu, un autre facteur exerce une influence morphogénétique très nette. Il s'agit des sels d'ammonium. Mais cette action est bien meilleure, lorsque la solution nutritive renferme également des nitrates.

14° Dans une solution renfermant à la fois des nitrates et un sel d'ammonium, nous obtenons, chez *P. longifolia*, comme il est de règle dans la

nature, une extrême réduction du stade filamenteux ou même sa suppression. Toutes les cellules du filament, ou presque toutes, participent à la constitution de la spatule.

15° Si la teneur en sel d'ammonium, dans ces solutions, ne représente pas l'optimum, mais est trop faible, la zone méristématique de l'échancrure tend à redonner une languette plus ou moins cordiforme.

16° L'action des sels d'ammonium entraîne, chez *P. longifolia*, la formation de nombreuses archégones.

17° La lumière continue, lorsque les milieux renferment à la fois des nitrates et un sel d'ammonium, semble antagoniste de l'action des sels d'ammonium, en ce sens que, dans ces conditions, le stade filamenteux est formé d'assez longues cellules comme lorsque les prothalles se développent sur milieu dont la source azotée est représentée uniquement par des nitrates (Knop).

Dans ces mêmes solutions nutritives, la lumière continue provoque assez souvent, l'apparition de ramifications. Nous avons observé ce phénomène, chez *P. longifolia*, *D. setigera* et *A. aureum*.

18° Lorsque les sels d'ammonium constituent la seule source d'azote, le comportement des espèces varie avec les sels utilisés. Il diffère aussi suivant que les cultures sont placées en lumière ordinaire ou en lumière continue.

a. En lumière ordinaire, *P. longifolia* s'accommode du sulfate et du chlorure d'ammonium. Le stade filamenteux est réduit, le prothalle cordiforme se constitue, mais il apparaît quelques anomalies. Il s'agit de rhizoïdes anormaux, renflés en amphore ou sphériques et de contenu brunâtre. Le nitrite d'ammonium, par contre, est toxique.

D. setigera s'adapte mal à tous les sels d'ammonium. Le stade filamenteux est formé de courtes cellules, mais la nécrose s'installe presque aussitôt.

b. En lumière continue, les cultures de *P. longifolia* finissent par dépérir. Mais *A. aureum* se développe très bien. *D. setigera* ne s'adapte pas du tout.

19° La présence d'oligo-éléments n'accélère pas la croissance des prothalles, dont le développement s'effectue en présence de sels d'ammonium, que les cultures soient placées en lumière ordinaire ou en lumière continue. On observe simplement, en lumière continue, un verdissement plus intense des prothalles.

FACTEURS BIOLOGIQUES. — L'action des mycorhizes sur le développement des prothalles de Ptéridophytes est connue depuis longtemps. Les exemples les plus anciennement observés se rapportent aux Ophioglossacées et aux Lycopodes. Dans tous les cas, il s'agit de champignons pénétrant à l'intérieur des cellules du gamétophyte.

Nous avons pu voir que d'autres organismes inférieurs, qui, à l'inverse des précédents, ne sont pas endocellulaires, exercent une influence morphogénétique très importante au cours de la croissance des prothalles. Nous résumons des faits nouveaux qui présentent un grand intérêt.

1° Un champignon cellulolytique, *Alternaria humicola*, diverses bactéries isolées sur glucosamine, nitrate de potassium ou matière cellulosique, agissent sur le développement des prothalles. Il y a tout lieu de penser que d'autres micro-organismes isolés du sol seraient également actifs.

2° L'influence de ces micro-organismes varie selon les espèces de Fougères auxquelles on s'adresse.

a. L'action du champignon cellulolytique est nette dans tous les cas, mais elle est beaucoup plus avantageuse pour *D. setigera*, *D. parasitica* et *P. longifolia*, où le prothalle cordiforme typique se constitue, que pour *A. aureum*, où le stade filamenteux est très prolongé.

b. L'action d'*Alternaria humicola* est très intense sur *P. longifolia*, *A. aureum*, moindre sur *D. setigera*.

Chez *P. longifolia* :

— elle permet le passage rapide du stade filamenteux au stade de lame cellulaire ;

— elle rend possible le développement sur des milieux toxiques pour cette espèce de Fougère : solution d'acétate d'ammonium, extrait de terre, milieu à base de sulfate d'ammonium, en lumière continue.

Chez *A. aureum*, l'action d'*Alternaria humicola* permet le développement en lumière ordinaire, sur tous les milieux minéraux que nous avons utilisés. Le développement de cette Fougère est le meilleur dans la solution de Knop. Les prothalles obtenus se rapprochent de ceux observés dans le même milieu en lumière continue. Sur les milieux à base de sels d'ammonium, les anomalies sont assez fréquentes. Elles consistent en formes ramifiées.

L'action du champignon permet aussi la formation d'une petite spatule, lorsque les spores sont ensemencées dans une solution d'acétate d'ammonium.

Chez *D. setigera*, l'influence d'*Alternaria humicola* est nette mais beaucoup moins puissante. Les prothalles cordiformes arrivent à se constituer, mais le stade filamenteux reste anormalement long.

3° La Pénicilline G, dont l'influence sur *P. longifolia* et *D. setigera* est négligeable, permet le développement d'*A. aureum* en lumière ordinaire.

4° L'interprétation du rôle des champignons et des bactéries peut être la suivante :

a. Ces organismes sécrètent une ou plusieurs substances inconnues qui diffusent dans le milieu et agissent sur la division cellulaire. Les travaux de nombreux auteurs, montrant la formation d'acide indole-acétique et de différentes substances de croissance, par les bactéries et les champignons, sont en faveur de cette hypothèse, de même que l'action de la Pénicilline, produit d'origine fongique, sur la croissance d'*A. aureum*.

b. Les micro-organismes synthétisent peut-être des vitamines que les prothalles ne peuvent fabriquer.

c. Une autre action possible consisterait dans une modification du milieu, due par exemple à la transformation des débris de sporanges souvent mêlés aux spores, ce qui entraînerait un apport supplémentaire de matières nutritives.

II. — Différences dans le comportement des espèces.

Les espèces que nous avons étudiées s'adaptent, très différemment, aux milieux que nous avons utilisés.

1° Le développement de *P. longifolia*, en lumière du jour, est possible sur tous les milieux, mais les solutions nutritives, renfermant, à la fois, des nitrates et un sel d'ammonium, se montrent nettement supérieures au milieu de Knop, puisque les étapes de la morphogenèse sont identiques à celles qu'on observe dans les conditions naturelles. L'action des micro-organismes est également très favorable.

2° Sur milieux minéraux et en lumière du jour, *A. aureum* ne se développe pas au-delà d'un stade filamenteux composé de quelques cellules. Mais la croissance se poursuit très activement, si les cultures sont placées en lumière continue (lumière du jour et appoint supplémentaire ininterrompu de 1 000 lux).

3° *D. setigera* donne de très longs filaments, sur tous les milieux minéraux utilisés. Quelques rares prothalles plus ou moins cordiformes arrivent parfois à se constituer.

La lumière continue améliore d'abord, un peu, le développement, lorsque le milieu renferme des nitrates et un sel d'ammonium. Mais, par la suite, elle se montre nuisible, comme c'est le cas avec toutes les autres solutions nutritives employées.

La succession normale des étapes de la croissance ne se produit qu'en présence de bactéries et de champignons.

III. — Modes de formation du prothalle chez les Polypodiacées.

On connaissait, jusqu'à ce jour, deux modes de formation du prothalle, chez les Polypodiacées.

1° Dans le type le plus répandu (auquel appartiennent *P. longifolia* et *D. setigera*), la cellule apicale se forme à partir de la cellule terminale du filament, où elle se délimite par deux cloisons obliques.

2° Dans le second type, celui des *Asplenium*, il se forme très différemment. Après formation du filament, les recloisonnements apparaissent. Ils respectent les premières cellules proches de la spore ainsi que la cellule terminale. Les recloisonnements des cellules intermédiaires produisent une expansion latérale. Et c'est dans une cellule marginale quelconque de cette expansion que se différencie l'apicale triangulaire.

Nous avons découvert un troisième type chez *A. aureum*. La formation du prothalle de cette espèce se réalise en deux temps principaux.

a. La spatule se constitue par les recloisonnements qui intéressent les cellules intermédiaires du filament germinatif mais non la cellule terminale. Celle-ci continue à se diviser transversalement.

b. Quand la spatule atteint une certaine taille, des recloisonnements plus

rapides interviennent sur un des côtés de la spatule, délimitant une région composée de petites cellules.

c. A partir de ce moment, la cellule terminale cesse de fonctionner, la formation du prothalle incombe, alors, au groupe de cellules de taille réduite précédemment cité.

La cellule terminale du filament germinatif est donc remplacée, fonctionnellement, par un groupe d'initiales situées loin d'elle. Il n'y a jamais de cellule typique délimitée par deux cloisons obliques.

d. Le mode de formation du prothalle, chez *A. aureum*, est, dans ses stades initiaux, absolument comparable au développement de la jeune plantule d'une algue rouge : *Polysiphonia fastigiata*.

IV. — Régénération des prothalles.

Les prothalles de Fougères présentent un grand pouvoir de prolifération et de régénération.

1° Nous avons vu que des prothalles cultivés sur milieux defectueux présentent, pour la plupart, des anomalies. En particulier, la cellule apicale et les cellules marginales peuvent s'allonger, donner naissance à un filament qui constitue, ultérieurement, une région méristématique, puis un nouveau prothalle.

Cette production de pousses adventives a été vue, en d'autres circonstances, par divers auteurs (prothalles âgés, plasmolysés, traumatisés, traités aux rayons X, immergés).

Mais on peut obtenir aussi de semblables excroissances lorsqu'on s'adresse, non plus à des prothalles entiers, mais simplement à des fragments. On s'aperçoit alors que les nouvelles pousses sont émises par des cellules quelconques.

On peut conclure, avec les auteurs anciens, que toutes les cellules sont virtuellement capable de donner naissance à un nouveau prothalle, c'est-à-dire de manifester des potentialités embryonnaires.

2° ALBAUM, le premier, essaie d'interpréter les causes du phénomène. Il pense qu'une « hormone de croissance » produite dans la zone de l'échancrure, et diffusant de haut en bas, inhibe le développement des prothalles adventifs. Si une cause quelconque empêche la production ou la répartition de cette substance, les cellules peuvent donner des excroissances.

Quelques observations que nous avons faites sont en faveur de l'hypothèse d'ALBAUM.

a. Chez *D. parasitica*, nous avons obtenu de nombreuses pousses surnuméraires, sur une portion d'aile séparée de la région méristématique par une bande de cellules mortes (fig. 111).

b. Chez *P. longifolia*, il y a, à la base d'une portion apicale sectionnée et parsemée d'ilots de nécrose, développement de prothalles adventifs (fig. 105).

c. Chez *A. aureum*, les extrémités de jeunes spatules, qui constituent, à ce moment-là, une région méristématique, continuent à se développer après

section, en donnant le plus souvent naissance à un prothalle complet. Par contre, les « appendices » prélevés sur les prothalles âgés, et qui ne sont plus, depuis longtemps, une région méristématique, ont un comportement différent. Il ne se forme plus un prothalle organisé, mais toutes les cellules de ces « appendices » peuvent, au contraire, être le point de départ d'une pousse adventive.

Dans les deux premiers cas, il y aurait gêne dans la diffusion de l'« hormone » et, dans le troisième, arrêt de production.

3° Nous pensons que la notion d'« hormones » peut nous permettre d'interpréter la succession des différents stades morphologiques, c'est-à-dire les étapes progressives de l'organisation du prothalle, ainsi que les différences de comportement des espèces que nous avons étudiées.

Les grandes lignes de l'hypothèse que nous formulons sont les suivantes :

a. Les « hormones » sont indispensables au développement du prothalle. En particulier, le déclenchement des divisions obliques et longitudinales est, sans doute, lié à leur présence. Le déterminisme de ces divisions apparaît comme très différent de celui des premiers cloisonnements transversaux.

Ce concept permet d'attribuer une signification nouvelle au stade filamenteux. Les auteurs l'ont considéré comme un caractère adaptatif ou primitif. Nous pensons qu'il est plus logique de le considérer comme une survivance de la structure ancestrale. Mais cette explication phylogénétique doit être complétée, à notre avis, par une interprétation physiologique. Il nous semble que le filament initial peut être envisagé comme l'expression morphologique d'une teneur nulle ou trop faible en substances responsables des recloisonnements ultérieurs.

b. Nous pensons que la capacité de synthèse de ces « hormones » est variable suivant les espèces de Fougères. Ainsi, selon nous, *P. longifolia* peut les fabriquer en lumière du jour et en milieux minéraux. *A. aureum* peut les produire, sur les mêmes milieux, mais avec un éclairage plus intense. *D. setigera* est pratiquement incapable de les synthétiser.

c. Le développement, dans la nature, suit des règles fixes, car les espèces non « autotrophes » par rapport aux substances de croissance les trouveraient toutes préparées dans le sol, où elles résulteraient de l'activité des micro-organismes ou bien proviendraient aussi des débris végétaux.

Le rôle des champignons que nous avons étudiés, la mise en évidence, par plusieurs auteurs, de la production d'hormones de croissance chez les bactéries indole-positive ou divers champignons, l'action de la Pénicilline sont en faveur de ce point de vue.

d. Toute perturbation dans la production ou la répartition des facteurs d'organisation se traduirait par des anomalies ou l'apparition de pousses adventives. Ceci expliquerait la grande sensibilité des prothalles aux conditions environnantes.

e. Les expériences de régénération nous ont montré la facilité avec laquelle les cellules végétatives du prothalle reprennent les potentialités

embryonnaires. Nous pensons que ces virtualités restent en sommeil, tant que le taux d'hormone à travers le prothalle demeure suffisant.

f. Il n'est pas possible, dans l'état actuel de nos connaissances, d'indiquer la nature chimique de ces composés. Il existe vraisemblablement de nombreuses substances capables d'exercer les mêmes propriétés physiologiques.

4° L'étude des facteurs morphogénétiques reviendrait, en définitive, à mettre en évidence les conditions optima de la production des « hormones de croissance » et de leur répartition à travers le prothalle.

BIBLIOGRAPHIE

- ALBAUM (H. G.), KAISER (S.) et NESTLER (H. A.). — 1937. The relation of hydrogen-ion concentration to the penetration of 3-indole acetic acid into *Nitella* cells (*Amer. Journ. Bot.*, **24**, 513-518).
- ALBAUM (G. H.). — 1938. Normal growth regeneration and adventitious out growth formation in Fern prothallia (*Amer. Journ. Bot.*, **25**, 13).
- ALBAUM (G. H.). — 1938. Inhibition due to growth hormones in Fern prothallia and sporophytes (*Amer. Journ. Bot.*, **24**, 124).
- ALLSOP (A.). — 1952. Experimental and Analytical studies of Pteridophytes. XVII : The effect of various Physiologically active substances on the development of *Marsilia* in sterile culture [*Ann. Bot. (N. S.)*, **16**, 165-184].
- ATKINSON (G. F.). — 1894. *The biology of Ferns*, 13.
- AVERY (G. S.), BURKHOLDER (P. R.) et CREIGHTON (H. B.). — 1937. *Avena* coleoptile curvature in relation to different concentrations of certain synthetic substances (*Amer. Journ. Bot.*, **24**, 226-232).
- BALL (E.). — 1938. Hetero-auxin and the growth of *Escherichia coli* (*Journ. Bact.*, **36**, 559-565).
- BARY (A. DE). — 1878. Ueber apogame Farne und die Erscheinung der Apogamie im Allgemeinen (*Bot. Zeit.*, **36**, 449-495).
- BAUKE (H.). — 1876. Entwicklungsgeschichte des Prothalliums bei den Cyatheaceen (*Prings. Jahr. Wiss. Bot.*, **10**, 49-116).
- BAUKE (H.). — 1878. Zur Kenntniss der sexuellen Generation bei den Gattungen *Platycerium*, *Lygodium* und *Gymnogramme* (*Bot. Zeit.*, **36**, 753-769).
- BAUKE (H.). — 1878. Beiträge zur Keimungsgeschichte des Schizeaceen (*Jahrb. f. Wiss. Bot.*, **11**, 603-650).
- BAUKE (H.). — 1880. Aus dem botanischen Nachlasse von Bauke (*Beitr. zur Bot. Zeit.*, **38**, 440).
- BECKER (Y.) et GUYOT (L.). — 1951. Sur la présence d'excrétats racinaires toxiques dans le sol de la pelouse herbeuse à *Brachypodium pinnatum* (faciès du *Xero Brometum erecti*) du Nord de la France (*Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse*, **86**, 7).
- BECKER (Y.), GUYOT (L.) et MONTEGUT (J.). — 1951. Sur quelques incidences phytosociologiques du problème des excréments racinaires (*C. R. Acad. Sc.*, **232**, 2472-2474).

- BEQUEREL (P.). — 1931. Développement de la Fougère mâle en culture pure aseptique à partir de la spore (*C. R. Acad. Sc.*, **192**, 1265).
- BENEDICT (H. M.). — 1941. The inhibitory effect of dead roots on the growth of bromegrass (*Journ. Amer. Soc. Agron.*, **33**, 1108-1109).
- BEYERLEE (R.). — 1932. Untersuchungen über die Regeneration von Farnprimärblättern (*Planta*, **16**, 622-665).
- BODE (H. R.). — 1939. Ueber die Blattausscheidung der Wermuts und ihr Wirkung auf andere Pflanzen (*Planta*, **30**, 566).
- BONNER (J.). — 1933. The action of the plant growth hormone (*Journ. Gén. Physiol.*, **17**, 63-76).
- BONNER (J.). — 1934. Relation of hydrogen ions to the growth rate of the *Avena coleoptile* (*Protoplasma*, **21**, 406-423).
- BONNER (J.) et GALSTON (A. W.). — 1944. Toxic substances from the culture media of guayule which may inhibit growth (*Bot. Gaz.*, **106**, 185-198).
- BONNER (J.). — 1946. Relation of toxic substances to growth of guayule in soil (*Bot. Gaz.*, **107**, 343-351).
- BOSE (S. R.). — 1956. *Alternaria* within the pericarp of the wheat seed (*Nature G. B.*, **178**, n° 4534, 640-641).
- BOTTOMLEY (W. B.). — 1920. The effect of nitrogen fixing organisms and nucleic acid derivatives on plant growth (*Proc. Roy. Soc. London, B.* **91**, 83-95).
- BOWER (F. O.). — 1889. Note on attempts to induce aposporous developments in Ferns (*Ann. Bot.*, **4**, 168-169).
- BOWER (F. O.). — 1896. *Ophioglossum simplex* Ridley (*Ann. Bot.*, **18**, 205-216).
- BOWER (F. O.). — 1926. *The Ferns*. Vol. II : The Eusporangiate and other relatively primitive Ferns, Cambridge University Press.
- BOYSEN-JENSEN (P.). — 1931 a. Ueber Wachstumsregulatoren bei Bakterien (*Biochem. Zeitschr.*, **236**, 205-210).
- BOYSEN-JENSEN (P.). — 1931 b. Ueber Bildung eines Wachstumregulators durch *Aspergillus niger* (*Biochem. Zeitschr.*, **239**, 244-249).
- BOYSEN-JENSEN (P.). — 1932. Ueber die Bildung und biologische Bedeutung des Wachstumsregulators bei *Aspergillus niger* (*Biochem. Zeitschr.*, **250**, 270-280).
- BOYSEN-JENSEN (P.). — 1936. *Growth hormones in plants*. Translated and revised by G. S. AVERY and P. R. BURKHOLDER, New-York.
- BROWN (N. A.) et GARDNER (F. E.). — 1936. Galls produced by plants hormones, including a hormone extracted from *Bacterium tumefaciens* (*Phytopathology*, **26**, 708-713).
- BROWN CHARLTON (F.). — 1938. Formative effects of radiation upon Fern prothallia (*Amer. Journ. Bot.*, **25**, 431).
- BRUCHMANN (H.). — 1904. Ueber das Prothallium und die Keimpflanze von *Ophioglossum vulgatum* (*Bot. Zeit.*, **62**, 231-247).
- BRUCHMANN (H.). — 1906. Ueber das Prothallium und die Sporenpflanze von *Botrychium lunaria* (*Flora*, **46**, 203-227).
- BUCHTIEN (O.). — 1887. Entwicklungsgeschichte des Prothalliums von Equisetum (*Dissertation Rostock*).
- BURCK (W.). — 1875. Vorläufige Mitteilung über die Entwicklungsgeschichte des Prothalliums von *Aneimia* (*Bot. Zeit.*, **33**, 499-501).
- BURCK (W.). — 1875. Sur le développement du prothalle des *Aneimia* comparé à celui des autres Fougères (*Arch. néerl.*, **10**, 416-442).
- CAMPBELL (D. H.). — 1892. On the prothallium and embryo of *Osmunda claytonia* and *Osmunda cinnamomea* (*Ann. Bot.*, **6**, 49-94).
- CAMPBELL (D. H.). — 1895. *Structure and development of mosses and ferns*, 1st. edit., 224-228.
- CAMPBELL (D. H.). — 1905-1907. Studies on the *Ophioglossaceæ* (*Ann. Jard. Bot. Buitenzorg*, **5-6**, 138-190).
- CAMPBELL (D. H.). — 1918. *Mosses and Ferns*, 234.

- CAMUS (G.). — 1954. Action de la Pénicilline G sur la croissance de tissus normaux et tumoraux cultivés *in vitro* (*C. R. Acad. Sc.*, **238**, 1058-1060).
- CHEN (H. K.). — 1938. Production of growth substance by clover nodule bacteria (*Nature*, **142**, 753-754).
- CHUDIAKOV (J. P.). — 1935. The lytic action of soil bacteria on parasite fungi (*Mikrobiologiya*, **4**, 193-204).
- COURBET (H.). — 1955. Influence de la concentration ionique du milieu sur la germination des spores et la croissance des prothalles de Filicales en culture aseptique (*C. R. Acad. Sc. Paris*, **241**, 441-443).
- CZAYA (A. Th.). — 1921. Ueber Befruchtung, Bastardierung und Geschlechter-Trennung bei Prothallien homosporer Farne (*Zeitsch. für Bot.*, **13**, 545-586).
- DAVIS (E. G.). — 1928. The toxic principle of *Juglans nigra* as identified with synthetic juglone and its toxic effect on tomato and alfalfa plants (*Amer. Journ. Bot.*, **15**, 620).
- DAY (D.). — 1942. Thiamin content of agar (*Bull. Torr. Bot. Club.*, **69**, 11-20).
- DELEUIL (G.). — 1950. Mise en évidence de substances toxiques pour les thérophytes dans les associations du Rosmarino-Ericion (*C. R. Acad. Sc.*, **230** (2), 1362-1364).
- DELEUIL (G.). — 1951. Origine des substances toxiques du sol des associations sans thérophytes du Rosmarino-Ericion (*C. R. Acad. Sc.*, **232**, 2038-2039).
- DIELS (L.). — *Cyatheaceæ, Polypodiaceæ, Parkeriaceæ, Schizeaceæ* (in ENGLER et PRANTL, *Die natürlichen Pflanzenfamilien*, Teil **1**, Abt. **4**, 113-371).
- DICKSON (H.). — 1932. Polarity and the production of adventitious growing points in *Marchantia polymorpha* (*Ann. Bot.*, **46**, 683-701).
- DOPP (W.). — 1927. Untersuchungen über die Entwicklung von Prothallien einheimischer Polypodiaceen (*Pflanzenforschung*, **8**).
- EAMES (A. J.). — 1936. *Morphology of vascular plants. Lower groups*, New-York.
- FARLOW (W. G.). — 1874. Ueber ungeschlechtliche Erzeugung von Keimpflanzen an an Farn-Prothallien (*Bot. Zeit.*, **32**, 180-183).
- FARLOW (W. S.). — 1874. An asexual growth for the prothallus of *Pteris cretica* (*Journ. Micr. Sc.*, **14**, 266-272).
- FARMER (J. B.) et DIGBY (L.). — 1907. Studies in Apospory and Apogamy in Ferns (*Ann. Bot.*, **21**, 191-212).
- FOREST HEALD, 1898. Conditions of the germination of the spores of Bryophytes and Pteridophytes (*Bot. Gaz.*, **26**, 25).
- FRIEBER (W.). — 1921. Beiträge zur Frage der Indolbildung und der Indolreaktionen, sowie zur Kenntnis des Verhaltens indolnegativer Bakterien (*Zentralbl. Bakt.*, **1**, Abt. **87**, 254-277).
- FUNKE (G. L.). — 1943. The influence of *Artemisia absinthium* on neighboring plants (*Blumea*, **5**, 281-296).
- GEORGEVICH (P.). — 1910. Preliminary note on apospory and apogaly in *Trichomanes kaulfussii* (*Ann. Bot.*, **24**, 233-234).
- GÖBEL (K.). — 1877. Entwicklungsgeschichte des Prothalliums von *Gymnogramme leptophylla* (*Bot. Zeit.*, **35**, 671-711).
- GÖBEL (K.). — 1880. Zur Embryologie der Archegoniaten (*Bot. Zeit.*, **38**, 508).
- GÖBEL (K.). — 1880. Beiträge zur vergleichenden Entwicklungsgeschichte der Sporangien (*Bot. Zeit.*, **38**, 544-551).
- GÖBEL (K.). — 1887. *Outlines of classification and special morphology*, Oxford.
- GÖBEL (K.). — 1905. *Organography of plants*, Oxford.
- GÖBEL (K.). — 1908. *Einleitung in die experimentelle Morphologie der Pflanzen*, Leipzig.
- GÖBEL (K.). — 1912. Archegoniatenstudien. XIV : *Loxosoma* und das System der Farne (*Flora*, **105**, 33-52).
- GÖBEL (K.). — 1915-1918. *Organographie der Pflanzen*, Th. 2.
- HARTLEY (K. T.) et GREENWOOD (M.). — 1933. The effect of small-applications of farm yard manure on the yield of cereals in Nigeria (*Empire Jour. Exp. Agric.*, **1**, 113-121).
- HEILBRONN (A.). — 1910. Apogamie, Bastardierung und Erblchkeitsverhältnisse bei einigen Farnen (*Flora*, **101**, 1-42).

- HEILBRONN (A.). — 1927. Ueber experimentell erzeugte Tetraploidie bei Farnen (*Zeitsch. Ind. Abst. Vererb. Suppl.*, **2**, 830-844).
- HELLER (R.). — 1951. Sur l'action physique favorable exercée sur la croissance des cultures de tissus végétaux par le contact d'un milieu gélosé ou d'un gel de silice (*C. R. Soc. Biol.*, **145**, 675-678).
- HEIM (C.). — 1896. Untersuchungen über Farnprothallien (*Flora*, **82**, 329-373).
- HERTER (C. A.) et TENBROEK (C.). — 1909. A biochemical study of *Proteus vulgaris* Hauser (*Jour. Biol. chem.*, **9**, 491-511).
- HOFMEISTER (W.). — 1851. *Vergleichende Untersuchungen der Keimung, Entfaltung und Fruchtbildung höherer Kryptogamen*, Leipzig.
- HOLLOWAY (J. E.). — 1930. The experimental cultivation of the gametophytes of *Hymenophyllum pulcherrimum* Col. and *Trichomanes reniforme* Forst (*Ann. Bot.*, **44**, 269-284).
- HOPKINS (F. G.) et COLE (S. W.). — 1903. A contribution to the chemistry of proteids. II : The constitution of tryptophane and the action of bacteria upon it (*Jour. Physiol.*, **29**, 451-466).
- HUREL-PY (G.). — 1941. Sur la culture aseptique prolongée d'un prothalle de Fougère (*C. R. Acad. Sc.*, Paris, **212**, 720).
- HUREL-PY (G.). — 1942. Étude de quelques milieux permettant la culture illimitée d'un prothalle d'*Asplenium* (*C. R. Acad. Sc.*, Paris, **214**, 571).
- HUREL-PY (G.). — 1943. De l'influence du glucose sur le développement de l'appareil végétatif et reproducteur du gamétophyte d'*Asplenium* (*C. R. Acad. Sc.*, Paris, **216**, 77).
- HUREL-PY (G.). — 1943. De l'influence de l'acide indole-acétique sur la culture des prothalles d'*Asplenium* en milieu aseptique (*C. R. Soc. Biol.*, **137**, 57).
- HUREL-PY (G.). — 1943. Sur la culture indéfinie du gamétophyte de *Nephrolepis cordifolia* (*C. R. Acad. Sc.*, Paris, **216**, 741).
- HUREL-PY (G.). — 1944. Observations sur la germination des spores de quelques Filicinaées (*C. R. Acad. Sc.*, Paris, **218**, 326).
- HUREL-PY (G.). — 1944. Sur la germination des spores de *Gymnogramme calomelanos* et sur la culture de ses prothalles en milieu aseptique (*Bull. Soc. Bot. de France*, **91**, 49).
- HUREL-PY (G.). — 1944. Sur la multiplication des prothalles de Fougères en milieu aseptique (*C. R. Soc. Biol.*, **138**, 502).
- HUREL-PY (G.). — 1944. De l'influence de la température sur la croissance des gamétophytes d'*Asplenium* (*C. R. Soc. Biol.*, **138**, 145).
- HUREL-PY (G.). — 1945. La culture des prothalles d'*Asplenium* en milieu liquide (*Bull. Soc. Bot. de France*, **92**, 37).
- HUREL-PY (G.). — 1946. Action du glucose sur la croissance des prothalles de *Gymnogramme calomelanos*, *Nephrolepis cordifolia* et d'*Asplenium* sp. (*C. R. Acad. Sc.*, Paris, **222**, 678).
- HUREL-PY (G.). — 1947. De la culture des spores d'*Adiantum cuneatum* et de *Pteris cretica* (*C. R. Acad. Sc.*, Paris, **223**, 950).
- HUREL-PY (G.). — 1947. De l'influence du saccharose sur la croissance du gamétophyte d'*Asplenium* en milieu aseptique (*C. R. Soc. Biol.*, **141**, 356).
- HUREL-PY (G.). — 1948. Influence de la lumière sur la culture aseptique des prothalles de Fougères (*C. R. Soc. Biol.*, **142**, 297).
- HUREL-PY (G.). — 1949. Technique permettant la culture indéfinie des prothalles de Fougères à partir de la spore (*C. R. Soc. Biol.*, **142**, 500).
- JACKSON (J. R.). — 1936. Syngamy in *Pteris longifolia* (*Amer. Journ. Bot.*, **23**, 162-166).
- JANCZEWSKI et ROSTAFINSKI. — 1875. Note sur le prothalle de l'*Hymenophyllum tunbridgense* (*Bot. Zeit.*, 389).
- JEFFREY (E. C.). — 1898. *The gametophyte of Botrychium virginianum*, University of Toronto Studies.
- JONKMANN (H. F.). — 1878. Entwicklung des Prothalliums der Marattiaceen (*Bot. Zeit.*, **36**, 616).

- JONKMANN (H. F.). — 1879. Entwicklung des Prothalliums der Marattiaceen (*Bot. Zeit.*, **37**, 129-145).
- JONKMANN (H. F.). — 1880. La génération sexuée des Marattiacées (*Arch. néerl.*, 15).
- KLEBS (G.). — 1917. Zur Entwicklungs-Physiologie der Farnprothallien (*Sitz. Heidel. Akad. Wiss. Math. Nat. Klasse*, 1-138).
- KNY (L.). — 1869. Entwicklungsgeschichte des Vorkleins der Polypodiaceen und Schizaeaceen (*Report in Bot. Zeit.*, **27**, 46).
- KNY (L.). — 1872. Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Farnkräuter. I: Entwicklung des Vorkleins von *Osmunda regalis* (*Jahrb. Wiss. Bot.*, **8**, 1-14).
- KOVOOR (A.). — 1953 a. Action du jus de raisin sur la croissance des tissus de crown-gall de *Scorsonère* cultivés *in vitro* (*C. R. Acad. Sc.*, **236**, 309).
- KOVOOR (A.). — 1953 b. Action stimulante de quelques extraits de fruits et de graines sur le développement de tissus de crown-gall de *Scorsonère* cultivés *in vitro* (*C. R. Acad. Sc.*, **237**, 271).
- KOVOOR (A.). — 1953 c. Action comparée du liquide intracalical de *Spathodea campanulata* Beauv. sur la croissance des cultures de tissus végétaux (*C. R. Acad. Sc.*, **238**, 832).
- KOVOOR (A.). — 1954. Action de quelques substances stimulantes d'origine naturelle sur le développement de tissus végétaux cultivés *in vitro* (*Année biologique*, **30**, 417-429).
- LANG (W. H.). — 1896. Preliminary statement on the development of sporangia upon Fern Prothalli (*Proc. Roy. Soc.*, 60).
- LANG (W. H.). — 1898. On apogamy and the development of sporangia upon Fern prothalli (*Phil. Trans. Roy. Soc. London B*, **190**, 189-238).
- LANG (W. H.). — 1929. On a variety of *Soclopendrium vulgare* that bears sporangia on the prothallus (*Ann. Bot.*, **43**, 355-374).
- LAWTON (E.). — 1932. Regeneration and induced polyploidy in Ferns (*Amer. Journ. Bot.*, **19**, 303-333).
- LAWTON (E.). — 1936. Regeneration and induced polyploidy in *Osmunda regalis* and *Cystopteris fragilis* (*Amer. Journ. Bot.*, **23**, 107-114).
- LEITGEB (H.). — 1877. Ueber Bilateralität der Prothallien (*Flora*, **60**, 174-175).
- LEITGEB (H.). — 1879. Studien über Entwicklung der Farne (*Der Sitz. d. K. Akad. d. Wiss., Wien*, 80).
- LEITGEB (H.). — 1880. Studien über Entwicklung der Farne (*Bot. Zeit.*, **38**, 306).
- LEITGEB (H.). — 1885. Die Sprossbildung an apogamen Farnprothallien (*Ber. Deutsch. Bot. Ges.*, **3**, 169-176).
- LIFE (A. C.). — 1907. Effect on light upon the germination of spores of the gametophytes of ferns (*18th Ann. Rep. Mo. Bot. Gard.*, 109-122).
- LINSBAUER (K.). — 1926. Ueber Regeneration der Farnprothallien und die Frage der Teilungstoffe (*Biol. Centrbl.*, **46**, 80-96).
- LURSEN (C.). — 1869. Ueber den Einfluss des rothen und blauen liches auf die Strömung des Protoplasma in den Brennhaaren von *Urtica* und den Staubfadenhaaren des *Tradescantia virginica* (*Inaug. diss. Bot. Zeit.*, **27**, 301-706).
- MANTON (I.). — 1932. Contributions to the cytology of apospory in ferns. I: A case of induced apospory in *Osmunda regalis* L. (*Journ. Genetics*, **25**, 423-430).
- MEIER (F. E.). — 1934. Effects of intensities and wave lengths of light on unicellular green algae [*Smithson. Misc. Coll.*, **92** (6), 1-27].
- MEINHOLD (Th.). — 1910. Beiträge zur Physiologie der Diatomeen (*Beitr. zur Biol. der Pflanzen*, **10**, 353).
- METTENIUS. — 1856. *Filiculus horti* Botanici lipsiensis, Leipzig.
- METTENIUS. — 1864. Ueber die Hymenophyllaceen (*Abh. d. K. sachs. Gesellsch. d. Wissensch.*, **7**).
- MOREL et WETMORE (R. H.). — 1951. Ferns callus tissue culture (*Amer. Journ. Bot.*, **38**, 141-143).
- MOTTIER (D.). — 1927. Behaviour of certain Fern prothallia under prolonged cultivation (*Bot. Gaz.*, **83**, 244-266).

- MOTTIER (D.). — 1931. Development of organs of Fern prothallia under prolonged cultivation [*Bot. Gaz.*, **92** (2), 218-223].
- MYERS (H. E.) et ANDERSON (K.). — Bromegrass toxicity vs. nitrogen starvation (*Journ. Amer. Soc. Agron.*, **34**, 770-773).
- NAGAI (I.). — 1914. Physiologische Untersuchungen über Farnprothallien (*Flora*, **106**, 281-330).
- NAGAI (I.). — 1915. On the influence of nutrition upon the development of sexual organs in the Fern prothallia (*J. Coll. Agric. U. Tokyo*, **6**, 121-161).
- NAVEZ (A. E.). — 1933. Growth promoting substance and illumination (*Proc. Nat. Acad. Sci.*, **19**, 636-637).
- NICKELL (L. G.). — 1952. Stimulation of plant growth by antibiotics (*Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **80**, 615-617).
- NICKELL (L. G.) et FINLAY (A.). — 1954. Antibiotics and their effects on plant growth (*Agric. and Food chem.*, **2**, 178-182).
- ORTH (R.). — 1936. Morphologie und Physiologie Untersuch. an Farnprothallien (*Planta*, **25**, 104-150).
- VAN OVERBEEK (J.). — 1932. An analysis of phototropism in dicotyledons (*Proc. Kön. Akad. Wetenschap*, Amsterdam, **35**, 1325-1335).
- VAN OVERBEEK (J.). — 1933. Wuchsstoff, Lichtumreaktion und Phototropismus bei Raphanus (*Rec. Trav. Bot. Neerl.*, **30**, 537-626).
- VAN OVERBEEK (J.). — 1936 a. Growth substance curvature of *Avena* in light and dark (*Journ. Gen. Physiol.*, **20**, 283-309).
- VAN OVERBEEK (J.). — 1936 b. Light growth response and auxin curvatures of *Avena* (*Proc. Nat. Acad. Sci. (U. S.)*, **22**, 421-425).
- VAN OVERBEEK (J.). — 1936 c. Different action of auxin and of hetero-auxin [*Proc. Nat. Acad. Sci. (U. S.)*, **22**, 188-190].
- PACE (L.). — 1910. Some peculiar fern prothallia (*Bot. Gaz.*, **50**, 49-58).
- PERRING (G.). — 1908. Recherches sur les prothalles des Polypodiacees (*Thèse*, Paris).
- PFEIFFER (N. E.). — 1912. Abnormalities in the prothallia of *Pteris longifolia* (*Bot. Gaz.*, **53**, 436-438).
- PICKETT (F. L.) et THAYER (L. A.). — 1927. The gametophytic development of certain ferns : *Polypodium vulgare* var. occidentale and *Pellea densa* (*Bull. Torr. Bot. Club* **54**, 249-255).
- PICKERING (S. U.). — 1903. The effect of grass on apple trees (*Journ. Roy. Agric. Soc., England*, **64**, 365-376).
- PICKERING (S. U.) et BEDFORD (duc de). — 1914. Effect of one crop upon another (*Journ. Agr. Sci.*, **6**, 136-151).
- PICKERING (S. U.) et BEDFORD (duc de). — 1917. The effect of one plant on another (*Ann. Bot.*, **31**, 181-187).
- PILET (P. E.). — 1949. Étude de l'action de l' α -naphthacetyl-glycinate 'de potassium sur le développement de *Salvinia natans* L. (*All. Experientia*, **5**, 119-120).
- POCHON (J.). — 1954. *Manuel technique d'analyse microbiologique du sol*, Masson et C^{ie}, Paris.
- PRANTL (K.). — 1879. Ueber den Einfluss des Lichtes auf die Bilateralität der Farne (*Bot. Zeit.*, **37**, 13).
- PRANTL (K.). — 1881. Beobachtungen über die Ernährung der Farnprothallien und die Vertheilung der Sexualorgane (*Bot. Zeit.*, **39**).
- PROEBSTING (E. L.) et GILMORE (A. E.). — 1940. The relation of peach root toxicity to the establishing of peach orchards (*Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **38**, 21-26).
- RAUWENHOFF (N.). — 1879. Ueber die Keimung des Prothalliums des Marattiaceen (*Bot. Zeit.*, **37**, 441).
- RAUWENHOFF (N.). — 1890. Die Geschlechtsgeneration der Gleicheniaceen *Naturk. verh. der Koninkl. Akad.*, **28**.
- RAUWENHOFF (N.). — 1890. — La génération sexuée des Gleichéniaées (*Arch. néerl.*, **21**, 157-231).

- REILLY (C.), SCHATZ (A.) et WAKSMAN (S. A.). — 1945. Antifungal properties of antibiotic substances (*J. Bact.*, **49**, 585-594).
- ROBBINS (W. J.). — 1939. Growth substances in agar (*Amer. Journ. Bot.*, **26**, 722-778).
- ROHLFS (L.). — 1955. Jeunes prothalles d'*Aneimia phyllitidis* Swartz, en provenance de Montréal (Canada) (*C. R. Acad. Sc.*, **240**, 1466-1468).
- ROHLFS (L.). — 1955. Jeunes prothalles de *Platyserium bifurcatum* (Cav.) (*C. R. Acad. Sc.*, **241**, 1466-1468).
- SALKOWSKI (E.) et SALKOWSKI (H.). — 1880. Ueber die Skatolbildende Substanz (*Ber. Deut. Chem. Ges.*, **13**, 2217-2218).
- SALKOWSKI (E.). — 1885 a. Zur Kenntniss der Eiweissfäulnis. Die Skatolarbonsäure (*Zeitschr. Physiol. Chemie*, **9**, 8-22).
- SALKOWSKI (E.). — 1885 b. Ueber das Verhalten des Skatolcarbon im Organismus (*Zeitschr. Physiol. Chemie*, **9**, 23-33).
- SADEBECK (R.). — Pteridophyta (*Die Natürlichen Pflanzenfamilien*, Teil **4**, 34-39).
- SAUVAGEAU (C.). — 1892. Sur quelques algues Phéosporées parasites (*Journ. Bot.*, **6**, 1-48).
- SCHULTZ (N.). — 1902. Ueber die Einwirkung des Lichtes auf die Keimungsfähigkeit der Sporen der Moose, Farne und Schachtelhalme (*Beih. Bot. Centralbl.*, **11**, 81-97).
- SELIBER (G.). — 1906. Les conditions extérieures et la reproduction chez quelques groupes du règne végétal d'après les travaux de KLEBS (*Rev. Gén. Bot.*).
- SERVETTAZ (C.). — 1923. Recherches expérimentales sur le développement et la nutrition des mousses en milieux stérilisés (*Ann. Sc. Nat.*, 9^e série, Bot., **17**, 111-224).
- SIEDGE (W. A.). — 1945. Experimental morphology of Pteridophytes (*Nature*, mars, 292-293).
- SMITH (G. M.). — 1938. *Cryptogamic Botany*. Vol. II : Bryophytes and Pteridophytes, New-York.
- SOSSOUNTZOV (I.). — 1950. L'alanine comme source d'azote *in vitro* des prothalles de *Gymnogramme calomelanos* (*C. R. Soc. Biol.*, **144**, 239).
- SOSSOUNTZOV (I.). — 1950. Étude de la croissance *in vitro* des prothalles de *Gymnogramme calomelanos* sur des milieux à concentrations variables en glycolle et en alanine (*C. R. Soc. Biol.*, **144**, 240).
- SOSSOUNTZOV (I.). — 1951. Sexualité et dimensions des prothalles de *Gymnogramme calomelanos* cultivés *in vitro* sur des milieux à concentrations variables en glycolle et en alanine (*C. R. Soc. Biol.*, **145**, 295).
- SOSSOUNTZOV (I.). — 1951. La phényl-alanine comme source d'azote pour la croissance *in vitro* des prothalles de *Gymnogramme calomelanos* (*C. R. Soc. Biol.*, **145**, 298).
- SOSSOUNTZOV (I.). — 1952. Remarques sur les colonies prothalliennes de *Gymnogramme calomelanos* à « masse nécrosée centrale » (*C. R. Soc. Biol.*, **146**, 380).
- SOSSOUNTZOV (I.). — 1953. Action de l'hydrazide maléique sur le développement *in vitro* des prothalles de Fougères. Croissance des colonies prothalliennes de *Gymnogramme calomelanos* (*C. R. Soc. Biol.*, **147**, 211).
- SOSSOUNTZOV (I.). — 1953. Action de l'hydrazide maléique sur le développement *in vitro* des prothalles de Fougères. Morphologie des prothalles et proportions des types prothalliens (*C. R. Soc. Biol.*, **147**, 605).
- SOSSOUNTZOV (I.). — 1953. Remarques sur la culture *in vitro* des colonies prothalliennes de Fougères. Présentation d'un appareil permettant la culture aseptique d'organes, d'organismes ou de tissus végétaux sur un milieu nutritif renouvelé (*C. R. Soc. Biol.*, **147**, 1001).
- SOSSOUNTZOV (I.). — 1953. Le développement *in vitro* des germinations et des prothalles de *Gymnogramme calomelanos* (Filicinée-Polypodiacee) en présence d'hydrazide maléique (*Phyton*, QITON **3**, 1-22).
- SOSSOUNTZOV (I.). — 1953. Action du glycolle sur le développement *in vitro* des colonies prothalliennes de *Gymnogramme calomelanos*, Filicinée Polypodiacee. I : Morphologie générale et accroissement pondéral des colonies (*Physiol. Plantarum*, **6**, 723-734).

- SOSSOUNTZOV (I.). — 1954. Action du glycolle sur le développement *in vitro* des colonies prothalliennes de *Gymnogramme calomelanos*, Filicinée Polypodiacee. II : Morphologie générale, sexualité et dimensions des prothalles constitutifs des colonies prothalliennes (*Physiol. Plantarum*, **7**, 1-15).
- STEIL (W. N.). — 1919. Apogamy in *Nephrodium hirtipes* HK (*Ann. Bot.*, **33**, 109-132).
- STEIL (W. N.). — 1939. Apogamy, apospory and parthenogenesis in the Pteridophytes (*Bot. Rev.*, **5**, 433-453).
- STEPHAN (J.). — 1928. Der Einfluss von Lichtqualität und Quantität auf das Wachstum der Brutkörper von *Marchantia polymorpha* (*Planta*, **6**).
- STEPHAN (J.). — 1928. Untersuchungen über die Lichtwirkung bestimmter Spectralbezirke und bekannter Strahlungsintensitäten auf die Keimung und das Wachstum einiger Farne und Moose (*Planta*, **5**, 381-444).
- STEPHAN (J.). — 1929 a. Entwicklungsphysiologische Untersuchungen an einigen Farnen (*Jahrb. Wiss. Bot.*, **70**, 707-742).
- STEPHAN (J.). — 1929 b. Keimungs- und Wachstumsbeschleunigung bei *Dicksonia antarctica* (*Beih. Bot. Centrbl. Qbt.*, **45**, 401-408).
- STEPHENSON (B. G.). — 1907. Young stages of *Dicksonia* and *Cyathea* (*Trans. Proc. New Zealand Inst.*, **40**, 1-16).
- STOKES (J. L.) et WOODWARD (C. R.). — 1942. The isolation from soil of spore-forming bacteria which produce bactericidal substances (*J. Bact.*, **43**, 253-263).
- STOKEY (A. G.). — 1918. Apogamy in the *Cyatheaceae* (*Bot. Gaz.*, **65**, 97-202).
- STOKEY (A. G.). — 1930. Prothallia of the *Cyatheaceae* (*Bot. Gaz.*, **90**, 1-45).
- STRICKLER (B.). — 1946. Responses of *Pteris longifolia* to applications of ammonium 2,4-dichlorophenoxyacetate (*Bot. Gaz.*, **108**, 101-114).
- TEODORESCO (E. C.). — 1929. Observations sur la croissance des plantes aux lumières de diverses longueurs d'onde (*Ann. Sc. Nat. Bot.*, **11**, 201-335).
- THIMANN (K. V.) et SKOOG (F.). — 1934. On the inhibition of bud development and other functions of growth substance in *Vicia faba* (*Proc. Roy. Soc. London*, B. **114**, 317-339).
- THIMANN (K. V.). — 1935. On the plant growth hormone produced by *Rhizopus suinus* (*Journ. Biol. Chem.*, **109**, 279-291).
- THIMANN (K. V.). — 1936. On the physiology of the formation of nodules on legume roots (*Proc. Nat. Acad. Sci.*, **22**, 511-514).
- THIMANN (K. V.). — 1937. On the nature of inhibitions caused by auxin (*Amer. Journ. Bot.*, **24**, 407-412).
- THOMAS (A. P. W.). — 1902. An anga-like fern prothallia (*Ann. Bot.*, **16**, 165-170).
- TREUB. — Études sur les Lycopodiacees (*Ann. Jard. Bot. Buitenzorg*).
- TWISS (E.). — 1910. The prothallia of *Aneimia* and *Lygodium* (*Bot. Gaz.*, **50**, 168-182).
- VLADESCO (A.). — 1931. Observations sur le développement de *Scolopendrium vulgare* (*Bull. Soc. Linn.*, Lyon).
- VLADESCO (A.). — 1934. Cultures expérimentales de Fougères, prothalles aposporiques (*C. R. Acad. Sci.*, Paris, **199**, 220).
- VOTH (P. D.) et HAMMER (K. C.). — 1940. Responses of *Marchantia polymorpha* to nutrient supply and photoperiod (*Bot. Gaz.*, **102**, 169-205).
- WAKSMAN (S. A.), HORNING (E.) et SPENCER (E. L.). — 1942. The production of two antibacterial substances, fumigacin and clavacin (*Science*, **96**, 202-203).
- WAKSMAN (S. A.) et WOODRUFF (H. B.). — 1942. Selective bacteriostatic and bactericidal action of various substances of microbial origin (*Journ. Bact.*, **43**, 9-10).
- WAKSMAN (S. A.) et HORNING (E. C.). — 1943. Distribution of antagonistic fungi in nature and their antibiotic action (*Mycologia*, **35**, 47-65).
- WENT (F. W.). — 1928. Wuchsstoff und Wachstum (*Rec. Trav. Bot. Néerl.*, **25**, 1-116).
- WENT (F. W.). — 1929. On a growth substance causing root formation (*Proc. Kon. Akad. Wetensch.*, Amsterdam, **32**, 35-39).
- WENT (F. W.). — 1932. Eine botanische Polaritätstheorie (*Jahrb. Wiss. Bot.*, **76**, 528-557).

- WENT (F. W.). — 1934. A test method for rhizocaline, the rootforming substance (*Proc. Kon. Akad. Wetensch.*, Amsterdam, **37**, 445-455).
- WENT (F. W.). — 1935. Auxin, the plant growth hormone (*Bot. Rev.*, **1**, 162-182).
- WENT (F. W.). — 1935. Hormones involved in root formation. The phenomenon of inhibition (*Proc. Inst. Bot. Cong.*, Amsterdam, **2**, 267-269).
- WENT (F. W.). — 1939. The dual effect of auxin on root formation (*Amer. Journ. Bot.*, **26**, 24-29).
- WENT (F. W.). — 1939. A case of correlative growth inhibition in plants (*Amer. Journ. Bot.*, **26**, 505-511).
- WENT (F. W.). — 1942. The dependance of certain annual plants on shrubs in Southern Californian deserts (*Bull. Torrey Bot. Club*, **69**, 100-114).
- WEST (P. M.) et WILSON (P. W.). — 1939. Growth factor requirements of the root nodule bacteria (*Journ. Bact.*, **37**, 161-180).
- WETTER (C.). — 1952. Beiträge zum Polaritätsproblem Leptosporangiaten Farne (*Biol. Zentr. Bl. Dtsch.*, **71**, 1-2).
- WILDMAN (S. G.) et BONNER (J.). — 1948. Observations on the chemical nature and formation of auxin in the *Avena coleoptile* (*Amer. Journ. Bot.*, **35**, 740-746).
- WILDMAN (S. G.) et MUIR (R. M.). — 1949. Observations on the mechanism of auxin formation in plant tissues (*Plant Physiol.*, **24**, 84-92).
- WINOGRADSKY (S.). — 1949. *Microbiologie du sol. Problèmes et méthodes* (cinquante ans de recherches), Masson et C^{ie}, Paris.
- WUIST (E. D.). — 1913. Sexual development of the gametophyte of *Onoclea struthiopteris* (*Physiol. Researches*, **1**, 92-132).
- WOODRUFF (H. B.) et FOSTER (J. W.). — 1945. Microbiological aspects of Penicillin (*Journ. Bact.*, **49**, 7-17).
- WORONOW. — 1894. Einfluss der äusseren Bedingungen auf das Keimen der Sporen und Wachsen der Prothallien (*Abstr. im Just's Bot. Jahrb.*, **22**, 176-177).
- WORONIN (H.). — 1908. Apogamie und Aposporie bei einigen Farnen (*Flora*, **98**, 101-162).
- YAMANOUCHI (S.). — 1904. Apogamy in *Nephrodium* (*Bot. Gaz.*, **45**, 289-318).
- ZIMMERMANN (P.) et WILCOXON (F.). — 1935. Several chemical growth substances which cause inhibition of roots and other responses in plants (*Contrib. Boyce Thompson Institute*, **7**, 209-229).

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté :

1^o LES ARTHROPODES PARASITES DE L'HOMME.

2^o LES PLANTES FOSSILES DE L'ÉPOQUE SECONDAIRE DANS LA RÉGION DU GOLFE DU LION.

Vu et approuvé :

Montpellier, le 3 Juin 1957.

**Le Doyen de la Faculté des Sciences
de Montpellier,**

Vu

et Permis d'imprimer :

Montpellier, le 3 Juin 1957.

Le Recteur de l'Académie,

